

**GIDA AMACIYLA İTHALİ İSTENEN GENETİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ
(Bt11 x GA21) MISIR ÇEŞİDİ VE ÜRÜNLERİ İÇİN
BİLİMSEL RİSK DEĞERLENDİRME RAPORU**

1. RAPORUN HAZIRLANIŞ GEREKÇESİ ve DAYANAKLARI

Bu rapor, *Streptomyces viridochromogenes* bakterisine ait fosfinotrisin-N-asetil transferaz enzimini (PAT proteini) kodlayan seçici markör *pat* geninin aktarılmasıyla glifosinat amonyum içeren herbisitlere toleranslı, ve *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* HD-1 bakteri ırkına ait endotoksini kodlayan *cry1Ab* geninin aktarılmasıyla Lepidoptera takımına ait bazı zararlı türlere dayanıklı genetiği değiştirilmiş mısır çeşidi (Bt11) ile yabancı mısırdaki bulunan EPSPS proteininin modifiye bir versiyonu olan mEPSPS (5-enolpirüvilşikimat-3-fosfat sentaz) proteinini kodlayan *mepsps* geninin aktarılmasıyla glifosat içeren herbisitlere toleranslı genetiği değiştirilmiş mısır çeşidinin (GA21) klasik yöntemle melezlenmesi sonucu geliştirilen genetiği değiştirilmiş yeni hibrid mısır çeşidinin (Bt11 x GA21) 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.

Bt11 x GA21 melez mısır çeşidi sürekli olarak ifade edilen *cry1Ab*, *pat* ve *mepsps* genlerini içermekte olup bu sayede Lepidoptera takımına ait bazı zararlı böceklerle (*Ostrinia nubilalis*; *Helicoverpa zea*; *Spodoptera frugiperda*, *Sesamia* cinsinde yer alan diğer türler) karşı dayanıklı, glifosat ve glifosinat amonyum içeren herbisitlere toleranslıdır (EFSA, 2009b).

Rapor hazırlanırken Bt11 x GA21 melez mısır çeşidi ile ilgili ithalatçı firma tarafından dosyada sunulan belgeler, risk değerlendirilmesi yapan çeşitli kuruluşların (EFSA, JRC/CRL-GMFF, WHO, FAO, FDA, OECD ve Japonya Çevre Bakanlığı) görüşlerini yansıtan raporların ve bilimsel araştırmaların sonuçları ile farklı ülkelerde üretim ve tüketim durumları göz önünde bulundurulmuştur. 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 ve çeşidi geliştiren kuruluş, ithal edilmek istenen çeşit ve ürünleri, çeşidin geliştirilme amacı, risk analizi ve değerlendirilmesi, genel sonuç ve öneriler ve risk yönetimi başlıkları altında verilmiştir.

2. İTHALATÇI KURULUŞLAR

- Türkiye Gıda ve İçecek Dernekleri Federasyonu İktisadi İşletmesi

3. İTHAL EDİLMEK İSTENEN ÇEŞİT ve ÜRÜNLERİ

Glifosat içeren herbisitlere toleransı sağlayan mEPSPS proteinini kodlayan *mepsps* genini içeren (GA21); glifosinat amonyum içeren herbisitlere toleransı sağlayan *pat* geni ile Lepidoptera takımına ait bazı zararlı türlere dayanıklılığı sağlayan *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* HD-1 ırkı bakteriye ait endotoksini kodlayan *cry1Ab* geninin aktarılmasıyla genetiği değiştirilmiş mısır çeşidinin (Bt11) klasik yöntemle melezlenmesi sonucu geliştirilen genetiği değiştirilmiş yeni hibrid mısır çeşidi (Bt11 x GA21) ithal edilmek istenmektedir. Bu mısır çeşidinin gıda olarak kullanılması amaçlanmaktadır.

4. ÇEŞİDİ GELİŞTİREN KURULUŞ

Syngenta Seeds SAS Chemin de l'Hobit 12, BP 27 31790 Saint-Sauveur FRANCE

5. ÇEŞİDİN GELİŞTİRİLME AMACI

Syngenta firması Bt11 x GA21 mısır çeşidini, glifosat ve glifosinat amonyum içeren herbisitlere toleranslı ve Lepidoptera takımında yer alan bazı zararlı hedef türlere dayanıklılık sağlaması amacıyla geliştirmiştir. Genetiği değiştirilmiş mısır çeşidi bu özellikleri sayesinde diğer klasik yöntemle geliştirilmiş melez mısır çeşitleri gibi geliştirildiği ülkelerde daha yüksek verim ve ürün kalitesi ile üretilerek işlenmesi (nişasta, mısır şurubu, kırma mısır, mısır unu, mısır yağı vb.) veya doğrudan yem ve gıda olarak kullanılması amaçlanmıştır. Diğer taraftan Bt11 x GA21 mısır çeşidinin glifosat ve glifosinat amonyum içeren herbisitlere toleransı üreticilere yabancı otlarla mücadele önemli derecede avantajlar sağlar. Glifosat yaklaşık 100 türün üstünde tek yıllık ve çok yıllık yabancı otlarla mücadelede kullanılır.

Yabancı otlar ile mücadelede kullanılan glifosat ve glifosinat amonyum içeren herbisitler Bt11 x GA21 mısır çeşidini etkilemeden ortamdaki yabancı otları yok etmektedir. Glifosinat amonyum kullanımının ardından hasadı yapılan genetiği değiştirilmiş mısır çeşidinde kalıntı olarak çok düşük düzeyde glifosinat ve 3-[hidroksi(metil)fosfinoil] propiyonik asit bulunmuş olup bu miktarın genetiği değiştirilmemiş mısır çeşitlerindeki kalıntı düzeyi ile aynı olduğu ifade edilmiştir. Glifosinat amonyum içeren herbisit uygulanan mısırlar ile geniş getiren hayvanların ve kümes hayvanlarının beslenmesi sonucu bu hayvanların et, süt ve yumurtalarında kalıntıya rastlanmamıştır. Anaç çeşitler Bt11 ve GA21'in gıda ve yem amaçlı kullanılabilirliği ile çevresel olarak güvenli olduğu 1996 yılında, ekim izni ise 2002 yılında onaylanmıştır. Buna karşın Melez Bt11 x GA21 mısır çeşidinin yem ve gıda olarak kullanılabilirliği ile çevresel olarak güvenli olduğu 2007 yılında onaylanmıştır (EFSA 2009a).

Bu başvuruda, glifosinat amonyum içeren ve glifosat herbisitlerine toleranslı ve Lepidoptera takımında yer alan bazı zararlı hedef türlere dayanıklı olan Bt11 x GA21 mısır çeşidi için gıda amaçlı ithal izni talep edilmektedir.

6. RİSK ANALİZİ ve DEĞERLENDİRMESİ

Bt11 x GA21 melez mısır çeşidine ve bundan üretilen gıda ürünlerine ait bilimsel risk analiz ve değerlendirme; 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 hazırlanmıştır.

Bu çeşitle ilgili bilimsel risk değerlendirilmesi yapılırken, çeşitle ilgili ithalatçı firmalar tarafından sunulan dosyadaki belgeler, risk değerlendirmesi yapan kuruluşların (EFSA, JRC/CRL-GMFF, WHO, FAO, FDA ve Japonya Çevre Bakanlığı) görüşleri ve bilimsel araştırmaların sonuçları (alerjik ve toksik etki analizleri, genetik modifikasyonun stabilitesi, morfolojik ve agronomik özellikler, hedef dışı organizmalara etkisi vb.) ile farklı ülkelerde tüketim 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 Yapı Tanımlanması ve Risk Değerlendirmesi

6.1.1. Aktarılan genleri taşıyan vektörlerin yapısı ve gen aktarım yöntemi

Bt11 x GA21 mısır çeşidi, genetiği değiştirilmiş iki anaç mısır çeşidinin (Bt11 ve GA21) klasik yöntemle melezlenmesiyle geliştirilmiştir.

Bt11 mısır çeşidi glifosinat amonyum içeren herbisitlere toleransı sağlayan *pat* genini içeren ve Lepidoptera takımına ait bazı hedef zararlı türlere dayanıklılığı sağlayan *B. thuringiensis* var. *kurstaki* HD-1 ırkı bakteriye ait endotoksini kodlayan *cry1Ab* genini içerir. Bt11, *NotI* restriksiyon enzimi ile pZO1502 plazmidinin (ticari olarak elde edilebilen pUC18 plazmidinin bir türevidir) kesimi sonucu elde edilen bir DNA parçasının mısır (*Zea mays*) bitkisi protoplastına transformasyonu (elektroporasyon) ile geliştirilmiştir. Aktarılan DNA parçası iki ifade kaseti içerir; birincisi *Streptomyces viridochromogenes* bakterisine ait fosfinotrisin-N-asetil transferaz enzimini (PAT proteini) kodlayan seçici markör *pat* geni, ikincisi *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* HD-1 ırkı bakteriye ait endotoksini kodlayan *cry1Ab* genidir. Bu genler aktarılan tek bir DNA dizisinde birer kopya olarak bulunur. *Pat* gen kasetinde, *pat* geninin mısırın tüm dokularında sürekli ifadesini sağlayan karnabahar mozaik virüsü (CaMV) kaynaklı 35S promotör, bitkilerde hedef gen *pat*'ın ifadesini artırmak için mısır alkol dehidrojenaz 1 geni (*adh1*)'nden elde edilen IVS2-ADH1 intronu, transkripsiyonu sonlandırıcı ve mRNA'nın poliadenilasyonunu sağlayan *Agrobacterium tumefaciens*'ten elde edilen 3' ucunda yerleşmiş translasyona uğramayan nopalin sentaz (*nos*) geni bulunur (bu gen hedef gen *pat*'ın transkripsiyonunu sonlandırır). *Cry1Ab* gen kasetinde ise diğerlerine ilaveten ayrıca gen ifadesini artırmak için mısır alkol dehidrojenaz 1 geni (*adh1*)'nden elde edilen IVS6-ADH1 intronu bulunur. Her iki gen kaseti de karnabahar mozaik virüsü (CaMV) kaynaklı 35S promotör ile kontrol edilir. Bu gen kasetlerine ilave olarak *cry1Ab* geni yönünde plazmidin *Escherichia coli*'de replikasyonuna izin veren ancak bitkide işlevsel olmayan ColE1 ori dizisi bulunur. pZO1502 plazmid *E. coli*'den elde edilen ve β -laktamaz kodlayan ayrıca seçici bir markör olarak *amp* genini (ampisiline direnç geni) içerir. Antibiyotik direnç geni *amp* ve kodlayıcı olmayan küçük DNA dizilerinin bitkiye geçtiğine dair yeterince kanıt elde edilememiştir.

GA21 mısır çeşidi glifosat içeren herbisitlere toleransı sağlayan EPSPS proteinin modifiye bir versiyonu olan mEPSPS (5-enolpirüvilsikimat-3-fosfat sentaz) proteinini kodlayan *mepsps* genini içerir. Glifosatın etkisi bitkinin ölümüne sebep olan EPSPS enziminin inhibisyonuna neden olarak şikimat yolunun (aromatik amino asitlerin biyosentez yolu) bozulmasını hızlandırır. mEPSPS proteini mısırdaki doğal olarak bulunan EPSPS proteininden yalnızca iki amino asit bakımından farklıdır. GA21 mısır çeşidi pUC19'dan türetilmiş pDPG434 plazmidinin *NotI* restriksiyon enzimi ile kesilen DNA parçasının (3.49 kb) mısır hücrelerine partikül bombardımanı yöntemiyle aktarımı ile geliştirilmiştir. Aktarılan DNA parçası çeltik aktin 1 (*Act 1*) geninin promotörünü (promotör ve kodlayıcı olmayan ilk ekson ve intronu içeren çeltik aktin 1 geninin 5' bölgesi), mısır ve ayçiçeğine ait optimize edilmiş N-ucu kloroplast transit peptidi kodlayan dizini (kısaca optimize transit peptit; OTP olarak isimlendirilir) içerir. Ayrıca, mısırdan elde edilen 5-enolpirüvilsikimat-3-fosfat sentaz proteinini kodlayan modifiye *epsps* (*mepsps*) ve sonlandırıcı olarak *Agrobacterium tumefaciens*'ten elde edilen nopalin sentaz (*nos*) genini içerir. Mısır *epsps* geninin dizilerindeki mutasyonlar 102. konumdaki treonin yerine izolösinin ve 106. konumdaki prolinin yerine serinin geçmesine neden olmaktadır. Bu mutasyon sonucunda *mepsps* genini içeren GA21 mısır çeşidi glifosat herbisitine toleranslı duruma gelir. Plazmid üzerinde plazmidin *E. coli*'de replikasyonunu sağlayan replikasyon orijini (*ori* ColE1), pUC19'da bulunduğu gibi β -galaktozidaz veya *lacZ* proteinini kodlayan *lac* dizisi ve bakterilerde ampisilin dirençliliğini sağlayan *E. coli*'nin pBR322 plazmidinden elde edilen bakteriyel *bla* (β -laktamaz) geni bulunur. Plazmide spesifik proplar kullanılarak yapılan izlemelerde *bla* geninin (*amp* geni) GA21 mısır çeşidine transfer olmadığı anlaşılmıştır.

Bt11 mısır çeşidi, içerdiği *cry1Ab* geninin kodladığı bir Delta-endotoksin δ -endotoksin ile Lepidoptera takımına bağlı bazı hedef zararlı türlere karşı dayanıklılık kazanır. δ -endotoksin hedef

hassas böceğin orta bağırsağında çözünerek önce protoksinlere daha sonra da orta bağırsak proteazları ile aktif toksin haline geçerler. Toksin orta bağırsaktaki epitelin apikal yüzeyindeki özel reseptörlere bağlanarak hücrelerin ve sonuçta sindirim sisteminin bu bölümünün yapısının bozulmasına neden olur. Zehirlenme sürecinde böceğin bağırsak hücrelerinin mikrovilluslarında oluşan hasar ve sonrasındaki porlarla toksin ve toksini sentezleyen bakteri böceğin vücut boşluğuna geçerek hemolenfe karışarak septisemiye neden olur (Broderick ve ark., 2006). Bakterinin sporulasyonu sürecinde oluşturduğu kristal şekilli proteinler Lepidopter takımına bağlı böceklerin alkali özelliğe sahip orta bağırsağında sindirilir (Woods ve Kingsolver, 1999). Alınan dozun artmasına bağlı olarak hedef zararlıların larvaları açlık ve septisemiden ölebilir veya dozun azalmasına bağlı olarak besin öğelerinin alımının önlenmesi, azalan pupal ağırlık, uzayan gelişme süresi gibi subletal etkiler ile yaşamına devam edebilir (Moreau ve Bauce, 2003). *B. thuringiensis* doğrudan kendisi veya bu bakterinin çeşitli suşlarından elde edilen insektisit özellikteki toksinler (Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1F vb.) karbamatlı ve organofosfatlı insektisitler gibi bir çok organik sentetik insektisitlere karşı bir alternatif olarak kullanılan biyopestisitlerin önemli bir sınıfını oluşturur (Gore ve ark., 2002). *B. thuringiensis* toksinleri değişik böcek takımlarına bağlı zararlı türlere karşı seçici etkiye sahip olduğundan günümüzde moleküler biyoteknoloji yöntemleri ile bu toksinin genleri böceklerin zarar verdiği belirli bitkilere aktararak zararlı böceklerle dayanıklı bitkiler geliştirilmektedir (Whalon ve Wingerd, 2003).

Bt11 mısır çeşidindeki *pat* geni fosfinotrisin-N-asetil transferaz enzimini (PAT proteini) kodlar. Bu protein glifosinat amonyumun aktif izomeri olan L-fosfinotrisini asetiller. Transgenik olmayan mısır bitkisinde glifosinat amonyum glutamin üretimi ve amonyak detoksifikasyonu için gerekli bir enzim olan glutamin sentetaz enzimini inhibe eder. Glifosinat amonyumun uygulanması transgenik olmayan mısır bitkisinde glutamin miktarını azaltır, amonyak seviyesini artırır. Sonuçta fotosentez inhibe edilerek bitkinin ölümüne sebep olur. Genetik olarak değiştirilmiş Bt11 mısır çeşidinde PAT proteini glifosinat amonyumun aktif izomeri olan L-fosfinotrisini asetiller. Oluşan bileşik N-asetil-L-fosfinotrisin, glutamin sentetazı inhibe edemez. Sonuç olarak Bt11 mısır çeşidi L-fosfinotrisine dolayısıyla glifosinat amonyum içeren herbisitlere tolerans kazanır (OECD 1999).

GA21 mısır çeşidi 5-enolpirüvilşikimat-3-fosfat sentaz (mEPSPS) proteinini kodlayan *mepsps* genini içerir. Transgenik olmayan mısırdaki bulunan EPSPS proteini aromatik amino asitlerin biyosentezinden sorumlu bir enzimdir. Glifosat EPSPS'yi inhibe ederek bitkilerin büyüme ve gelişmesi için gerekli amino asitlerin sentezlenmemesine neden olur. Genetik yapısı değiştirilmiş GA21 mısır çeşidi modifiye olmuş bir EPSPS (mEPSPS) içerir. mEPSPS glifosat tarafından inhibe edilemediğinden genetik olarak değiştirilmiş bu mısır çeşidi glifosat içeren herbisitlere karşı tolerans kazanmaktadır (Funke ve ark., 2006).

Bt11 x GA21 çeşidinde Çizelge 1'de belirtilen genetik elementler bulunmakta olup gen aktarımı amacıyla Bt11 için pZO1502 ve GA21 için pDPG434 (pUC19dan türetilmiştir) plazmitleri kullanılmıştır.

Çizelge 1. Bt11 x GA21çeşidine aktarılan genler ve kaynakları

Aktarılan genler (Bt11):	
<i>cry1Ab</i>	Kaynak: <i>B. thuringiensis</i> var. <i>Kurstaki</i>
<i>Pat</i>	Kaynak: <i>Streptomyces viridochromogenes</i>
Aktarılan gen (GA21):	
<i>Mepsps</i>	Kaynak: <i>mepsps</i> -geni mısırdan (<i>Zea mays</i>)

Bt11 x GA21 mısır çeşidinde, Lepidoptera takımında yer alan zararlı türlere (örn. *Ostrinia nubilalis*, *Sesamia* spp.) dayanıklılık sağlayacak Cry1Ab ve PAT proteinini üreten Bt11 anaç mısır çeşidi ile glifosinat amonyum içeren herbisitlere tolerans sağlayan mEPSPS proteinini sentezleyen GA21 anaç mısır çeşidi kullanılmıştır.

Bt11 x GA21, protoplast transformasyonu yöntemiyle gen aktarılmış Bt11 (Lepidoptera takımına bağlı zararlılara dayanıklı) ve partikül bombardımanı yöntemiyle gen aktarılmış GA21'in (glifosinat amonyuma toleranslı) klasik yöntemle melezlenmesi sonucu elde edilen ve bu özelliklerin tümünü içeren melez bir çeşittir.

6.1.2. Aktarılan genlerin moleküler yapısı, anlatımı ve stabilitesi

Bu melez çeşit, daha önce elde edilen iki transgenik çeşidin (Bt11 x GA21) klasik olarak melezlenmesinden elde edilmiş olup, herhangi bir genetik değişiklik yapılmamıştır. Bu nedenle, anaçların genetik yapısı melez çeşidin genetik yapısını oluşturmaktadır. Bt11, *pat* ve *cry1Ab* genlerini tek bir DNA üzerinde birer kopya içeren genetik yapısı değiştirilmiş bir mısır çeşididir.

Son dönemlerde klasik mısır bitkisine gelişmiş biyoteknolojik yöntemler ile gen aktararak geliştirilen Bt11 yeni mısır çeşidindeki aktarılan DNA'nın nükleotit dizisi daha önceki yıllarda geliştirilen Bt11 dizileri ile karşılaştırmalı olarak belirlenmiş olup aralarında önemli bir fark gösterilememiştir (EFSA, 2005b ve 2009a). Klasik mısır genomu ile genetiği değiştirilmiş Bt11 mısırına aktarılan genomun arasındaki birleşme bölgelerindeki DNA dizileri de belirlenmiştir. Genomun 5' ucunda aktarılan diziyeye bitişik olarak bitkinin yaklaşık 350 baz çiftlik bir DNA'sının bulunduğu gösterilmiştir. Bt11 gen dizisi ve genin aktarıldığı mısırın genom dizileri arasında yeni herhangi bir aktif gen bölgesinin işlevsellik kazanmadığı belirtilmiştir. Dolayısıyla yeni bir proteinin sentezlenmesi beklenmemektedir. *Nofl* DNA parçasının mısır genomuna aktarılması mısırdaki daha önceden var olan herhangi bir endojen genin yapısını ve dizilişini bozmadığı gösterilmiştir. Dizi analizleri yöntemleri sonucunda *amp* geninin dizilerinin de dahil olduğu herhangi bir vektör DNA dizisinin Bt11 mısır çeşidinde bulunmadığı ifade edilmiştir. Bt11 mısır çeşidine aktarılan DNA'nın genetik stabilitesinin birkaç kuşak boyunca devam ettiği Southern blot tekniği ile gösterilmiş olup, glifosinat-amonyum toleransı ve böceğe karşı dayanıklılık gibi özelliklerin ise kararlı bir şekilde Mendel'in genetik kurallarına göre yeni kuşaklara geçtiği gösterilmiştir. Biyoenformasyon analizi ile elde edilen tüm bu veriler genin aktarıldığı klasik mısırın kendi genomunda herhangi bir bozulma olmayacağı ve Bt11 mısır çeşidinde yeni toksin ve alerjen maddelerin potansiyel bir üretiminin gerçekleşmeyeceğini göstermiştir.

GA21, EPSPS proteinin modifiye bir versiyonu olan mEPSPS proteinini kodlayan *mepsps* genini içeren genetik yapısı değiştirilmiş bir mısır çeşididir.

GA21 mısır çeşidine aktarılan DNA dizilerinin 6 versiyondan oluştuğu (1-6 parça) ve tek bir lokusta bulunduğu Southern blot analizi ile gösterilmiştir. GA21 mısır çeşidi aktarılan tek bir DNA dizisi içerisinde *Nofl* restriksiyon parçasının 6 kopyasını içerir. Birinci parça 5' ucunda 696 baz çifti uzunluğunda bir eksilme ile çeltik aktin promotörü, aktinin ilk eksonu ve intron, OTP, *mepsps* geni ve *nos* sonlandırıcı geni içerir. İkinci, üçüncü ve dördüncü parçalar 3.49 kb büyüklüğündeki *Nofl* restriksiyon parçasının versiyonlarıdır. Beşinci parça tam uzunlukta çeltik aktin promotörü, aktinin ilk eksonu ve intron, OTP ve 288 baz çifti uzunluğunda olan ve bir sonlandırıcı (dur) kodon ile sonlanan *mepsps* geni içerir. Altıncı parça çeltik aktin promotörü ve çıkarılmış bir ekson içerir. Parça 1 ve 2'de *nos* sonlandırıcı geninde tek bir baz çifti değişimi (G'nin yerine C nükleotiti) ile parça 6'da aktin promotöründe tek bir baz eksilmesi tespit edilmiştir. Gözlenen bu mutasyonların yeni sentezlenecek proteinin amino asit dizilimi üzerinde etkisi olmadığı gösterilmiştir. Biyoenformasyon analizleri sonucunda GA21 mısırında aktarılan gen dizilerinin mısırın işlevsel genomunu etkilemediği belirtilmiştir. GA21 mısır çeşidi genomunun 3' ucu dizisinin klasik mısır genomu ile benzerlik gösterdiği, 5' ucunun mısır kloroplast DNA'sı ile benzer olduğu, aktarılan DNA ile mısır DNA'sının birleşme bölgesindeki beş adet genin bilinen herhangi bir toksin proteini veya

alerjen ile benzerlik göstermediği tespit edilmiştir. Biyoenformasyon analizi ile elde edilen tüm bu veriler genin aktarıldığı klasik yöntemle geliştirilmiş melez mısır çeşidinin kendi genomunda herhangi bir bozulma olmayacağı ve GA21 mısır çeşidinde yeni toksin ve alerjen maddelerin potansiyel bir üretiminin gerçekleşmeyeceğini göstermiştir. Plazmide karşı spesifik proplar kullanılarak yapılan izlemelerde, gen aktarımı için kullanılan vektörün DNA dizilerinin GA21 mısır çeşidinde bulunmadığının belirlenmesi ampisilin dirençliliğini sağlayan *bla* geninin GA21 mısırına transfer edilmediğini açık olarak göstermiştir. GA21 mısır çeşidine aktarılan DNA'nın genetik stabilitesinin kalıtsal olarak üç kuşak boyunca aktarıldığı ve mEPSPS proteininin çok sayıda kuşak boyunca stabil olarak sentezlendiği sırasıyla Southern ve Western blot teknikleriyle gösterilmiş olup, glifosat toleransı gibi özelliklerin ise kararlı bir şekilde Mendel'in genetik kurallarına göre tek bir gen olarak yeni kuşaklara geçtiği gösterilmiştir.

DNA hibritleme çalışmaları her bir anaç mısır çeşidindeki genlerin, Bt11 x GA21 mısır çeşidinde bulunduğu ve konukçu bitki genomuyla uyumlu olduğunu göstermiştir. Her bir anaç mısır çeşidinden Bt11 x GA21 mısır çeşidine aktarılan DNA parçaları (genler) Mendel kurallarına kalıtım göstermektedir. Amerika'da 2005 yılında yapılan tarla denemelerinden elde edilen Bt11 x GA21 mısır çeşidi ile Bt11 ve GA21 anaç mısır çeşitlerinin tanelerinde Cry1Ab, PAT ve EPSPS proteinlerinin konsantrasyonu belirlenmiştir. Bt11 ile Bt11 x GA21 mısır çeşitlerinin tanelerinde protein (PAT ve Cry1Ab) konsantrasyonu bakımından önemli bir istatistiksel fark bulunmamıştır. GA21 ile Bt11 x GA21 mısır çeşitlerinin tanelerinde de protein (mEPSPS) konsantrasyonu bakımından önemli bir fark bulunmamıştır (EFSA, 2009b). GA21 mısır çeşidinde sentezlenen mEPSPS proteinin zararsız olduğu ve bilinen toksin veya alerjen proteinler ile amino asit dizisi benzerliği bulunmadığı gösterilmiştir (Herouet-Guichheney ve ark., 2009, Domingo ve Bordonaba, 2011).

Southern blot analizi sonucunda anaç mısır çeşitlerine aktarılan DNA dizilerinin bu anaçlar arasında klasik melezleme yöntemi ile geliştirilen yeni hibrit çeşit Bt11 x GA21'de korunduğu ve böylece her bir anaç mısır çeşidindeki genlerin ifade ettiği özelliklerin yeni geliştirilen mısır çeşidinde de korunduğu gösterilmiştir. Aralarında bazı istatistiksel olarak önemli farklar bulunmasına rağmen bu farkların küçük düzeyde olduğu veya ekim mevsimlerine göre değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir (EFSA, 2009b). Diğer taraftan Cry1Ab, PAT ve mEPSPS proteinlerinin hayvan ve bitkiler için zararlı maddeler olmadığı ve melez mısır çeşidinde birbirleri ile etkileşmedikleri belirtilmiştir (Anonim, 2008). mEPSPS proteini klasik mısırdaki üretilen proteinle % 99,3'ün üzerinde benzerlik gösterdiğinden sağlık, biyogüvenlik ve çevre açısından bir etkisinin olmayacağı düşünülmektedir (James, 2007; Anonim, 2008)

Bazı organizasyonlar GA21 mısır çeşidinde 6 parça olan DNA'nın birinci parçasının 5' ucunda 696 baz çifti uzunluğunda bir diziden eksik olan çeltik aktin promotörü içermesi sebebiyle yeni gen dizilerinin oluşma ihtimalinin göz ardı edilemeyeceğini ileri sürmüştür. Bu varsayılan genlerin potansiyel alerjen veya toksik proteinleri sentezleyebileceği düşünülmektedir. Ancak bu kısmi eksilmenin, üretim, işleme ve tüketim süreçlerinde fenotipik, toksikolojik, agronomik ve çevresel olarak herhangi bir risk oluşturup oluşturmadığına dair detaylı araştırma sonuçları bulunmamaktadır.

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 dölllerinde, 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

Amerika, İspanya, Fransa, İtalya ve Portekiz'de 1994 ile 2003 yılları arasında farklı lokasyonlarda yapılan tarla denemelerinde Bt11 x GA21 mısır çeşidi, genetik yapısı değiştirilmemiş mısır çeşidi ile karşılaştırılmıştır (EFSA 2007a, 2009a, 2009b). GA21 ve Bt11 anaç mısır çeşitlerinin Amerika, Kanada, Arjantin ve Japonya'da ekimi yapılmaktadır.

Bt11 mısır çeşidinin taneleri açısından da kimyasal bileşim analizleri genetiği değiştirilmemiş mısır çeşidi ile karşılaştırılarak yapılmıştır. Amerika'da 1995 yılında 3 ile 6 lokasyonda, 1998 yılında ise 2 lokasyonda tarla denemeleri yapılmıştır (EFSA, 2009b). Bu denemeler sonucunda EFSA GDO paneli Bt11 mısır tanelerinin kimyasal bileşiminin, Bt11 mısırında Cry1Ab, PAT ve EPSPS proteinlerinin bulunması dışında genetiği değiştirilmemiş mısır çeşidindeki ile aynı olduğu sonucuna varmıştır. Ayrıca İspanya, Fransa, İtalya ve Portekiz'de 1994 ile 2003 yılları arasında farklı lokasyonlarda birkaç mevsim yapılan tarla denemeleri Bt11 mısır çeşidinin agronomik özelliklerinde ve performansında beklenmeyen bir değişiklik ortaya koymamıştır (EFSA 2007b).

GA21 mısır çeşidinin tanelerinde yapılan kimyasal bileşim analizleri genetiği değiştirilmemiş mısır çeşidi ile karşılaştırılarak yapılmıştır. 1996 yılında 5 lokasyon, 1997 yılında 7 lokasyon ve 2004-2005 yıllarında iki mevsimde 6 lokasyon olarak Amerika'da ve 1997 yılında 4 lokasyon olarak İtalya'da ve İspanya'da, tarla denemeleri yapılmıştır (EFSA, 2009b). Bu denemelerde glifosat herbisiti uygulanmış mısır bitkileri ile uygulanmamış mısır bitkileri kullanılmıştır. Bu denemeler sonucunda toplanan örneklerin kimyasal bileşim analizi GA21 mısır çeşidinin tanelerinin kimyasal bileşiminin, GA21 mısırında mEPSPS proteininin bulunması dışında genetiği değiştirilmemiş mısır çeşidi ile aynı olduğunu göstermiştir. Ayrıca Amerika'da 1999 ile 2004 yılları arasında farklı lokasyonlarda, Brezilya'da 2003 yılında birkaç mevsim yapılan tarla denemeleri GA21 mısır çeşidinin fenotipik özelliklerinde bir değişimin olmadığını ortaya koymuştur (EFSA 2007b).

Amerika'da 2005 yılında 6 lokasyonda yapılan tarla denemelerinde rastgele seçilen bloklarda Bt11 x GA21 mısır çeşidi ve kontrol olarak kullanılan genetiği değiştirilmemiş mısır çeşidinin üç tekrar şeklinde ekimi yapılmıştır. Bt11 x GA21 mısır çeşidine aynı zamanda glifosat ve glifosinat-amonyum herbisitleri uygulanmıştır. Her iki genotipten toplanan tanelerin kimyasal bileşim analizi yapılmış olup herbisit uygulanan ve uygulanmayan mısır çeşitlerinin kimyasal bileşiminin benzer olduğu belirlenmiştir (EFSA 2005, 2007b, 2009a).

6.2.1. Kimyasal Bileşimi

Söz konusu melez mısır çeşidi ile ilgili kimyasal analizler, 2005 yılında Amerika'da deneme tarlalarında yetiştirilen materyal üzerinde yapılmıştır. Bitki dokularının ve analiz maddelerinin seçimi OECD'in (2002) tavsiyelerine göre yapılmıştır.

Bt11 x GA21 mısır çeşidinin ve genetiği değiştirilmemiş mısır çeşidinin tanelerinden ise proksimatlar, lif, nem, protein, yağ, kül, total karbonhidrat, toplam besinsel lif (TBL), ADL ve NDL, nişasta, yağ asitleri, mineraller (kalsiyum, bakır, demir, magnezyum, manganez, fosfor, potasyum, sodyum, selenyum ve çinko), vitamin (B1, B2 ve B6 vitaminleri, niasin, folik asit, β-karoten, E vitamini) ve vitamin öncüleri; fitik asit, rafinoz, tripsin inhibitörü ve diğer bileşenlerin (inositol,

furfural, p-kumarik asit ve ferulik asit) miktarları analiz edilmiştir. Bt11 x GA21 mısır çeşidinin ve kontrol olarak kullanılan genetiği değiştirilmemiş mısır çeşidinin tanelerinin kimyasal analizinde bazı parametreler (yağ, E vitamini, palmitik asit vb) bakımından istatistiksel farklar ortaya çıkmasına rağmen her lokasyon için ayrı ayrı istatistik uygulandığında önemli bir fark ortaya çıkmamıştır. Bt11 x GA21 mısır çeşidinin amino asit içeriği ve protein miktarı bakımından genetiği değiştirilmemiş mısır çeşidi ile arasında önemli bir fark bulunmamıştır (Anonim, 2008). Fransa'da 1998 yılında iki lokasyonda yetiştirilen Bt11 x GA21 mısır çeşidi ve kontrol olarak kullanılan genetiği değiştirilmemiş mısır çeşidinin tanelerinin analizi sonucunda proksimat, karbonhidrat, protein, yağ, lif, amino asit ve yağ asiti miktarlarının değişmediği gösterilmiştir (EFSA 2009b).

6.2.2. Tarımsal Özellikler

Bt11 x GA21 mısır çeşidi ve genetiği değiştirilmemiş mısır çeşidi için Amerika'da 2005 yılında bölge başına yapılan 4 tekrarlı tarla denemelerinde fenotipik özellik, agronomik performans (örneğin tane verimi, olgunlaşan bitki sayısı, hasattaki bitki populasyonu, bitki yüksekliği, kök salma oranı) ve hastalığa hassaslık dereceleri belirlenmiştir. Lokasyonlar tek başına değerlendirildiğinde yapılan istatistik analizler verim, tane ağırlığı, koçan yüksekliği, gibi bazı özellikleri bakımından fark ortaya çıkarmış olup, tüm lokasyonlardan elde edilen tüm veriler birlikte değerlendirildiğinde önemli fark görülmemiştir.

Bt11 ve GA21 mısır çeşitlerinde çimlenme oranı, çimlenmedeki birlik, püskül uzaması, ağ örme zamanı, olgunlaşma zamanı, bitki tipi, sürgün sayısı, koçan sayısı, verimli koçan sayısı, tane rengi ve şekli, nod uzunluğu, koçan yüksekliği ve uzunluğu, koçan çapı, 100 tane ağırlığı, hasat zamanında yaş tane sayısı, ayrıca çiçeklenme zamanı ve çiçeklenmenin tamamlanma süresi gibi bazı morfolojik ve büyüme özellikleri genetiği değiştirilmemiş mısır çeşidi ile kıyaslanmıştır. Bu özellikler bakımından Bt11 ve GA21 mısır çeşitleri ile genetiği değiştirilmemiş mısır çeşidi arasında önemli bir fark görülmemiştir. Genetiği değiştirilmemiş mısır çeşidinde olduğu gibi Bt11 ve GA21 mısır çeşitlerinin polenleri düşük sıcaklığa dayanıksız olduğu için kış mevsiminde yetiştirilmediği belirtilmiştir. Ayrıca, Bt11 ve GA21 mısır çeşitleri ile genetiği değiştirilmemiş mısır çeşidi arasında tozlanma, çiçek tozu şekli ve büyüklüğü bakımından önemli bir fark görülmemiştir.

6.3. Toksikite Değerlendirmesi

Bt11 x GA21 çeşidinde Cry1Ab, PAT ve mEPSPS proteinleri dışındaki bileşim öğeleri açısından genetiği değiştirilmemiş mısır çeşidi ile benzer olduğu belirtilmiştir (EFSA 2009b). EFSA raporuna göre GA21 mısır çeşidinde bulunan mEPSPS proteini mısırdaki doğal olarak bulunan EPSPS proteininden (445 amino asit) yalnızca iki amino asit bakımından farklıdır. Transgenik olmayan mısırdaki EPSPS proteinini kodlayan *epsps* geninde 102. konumdaki treonin yerine izolösin ve 106. konumdaki prolin yerine serin amino asiti yerleştirilerek mutasyon oluşturulmuştur. Başvuru dosyasında yer alan, çeşidi geliştiren firmaya ait rapora göre söz konusu modifikasyon EFSA raporu ile uyumludur.

Bt11 x GA21 mısır çeşidindeki Cry1Ab, PAT ve EPSPS proteinlerinin hayvan ve insanlarda zararsız olduğu ve bilinen toksin proteinler ile amino asit dizisi benzerliği buldurmadığı dikkate alınmıştır (Herouet-Guichheney ve ark., 2009, Domingo ve Bordonaba, 2011). GA21 mısır çeşidi genomunun 3' ucu dizisinin klasik mısır genomu ile benzerlik gösterdiği, 5' ucunun mısır kloroplast DNA'sı ile benzer olduğu, aktarılan DNA ile mısır DNA'sının birleşme bölgesindeki beş adet genin ürününün bilinen herhangi bir toksin proteini veya alerjen ile benzerlik göstermediği tespit edilmiştir. Biyoenformasyon analizi ile elde edilen tüm bu veriler genin aktarıldığı klasik mısırdaki kendi genomunda herhangi bir bozulma olmayacağı ve Bt11 x GA21 mısır çeşidinde yeni toksinlerin ve alerjen maddelerin potansiyel bir üretiminin gerçekleşmeyeceğini göstermiştir (EFSA 2009b).

Bt11 x GA21 mısır çeşidinde aktarılan vektörlerden Cry1Ab, PAT ve mEPSPS proteinleri üretildiği için, toksisite çalışmaları bu proteinler üzerinde gerçekleştirilmiştir. Sıçanlarda, oral yoldan tekrarlanan dozlar şeklinde PAT proteini verildiğinde olumsuz bir etkiye rastlanmamıştır. Mikrobiyal kaynaklı Cry1Ab, PAT ve mEPSPS proteinleri mide sıvısı ortamının *in vitro* olarak sağlandığı şartlarda hızla parçalanmaktadır. Cry1Ab ve mEPSPS proteinleri ile beslenen farelerde akut toksik etkiler ortaya çıkmamıştır. Yapılan 49 günlük hayvan (et tavuğu, süt ineği, buzağı) besleme çalışmaları, Bt11 ve GA21 mısır çeşitlerinin taneleri ile genetiği değiştirilmemiş mısır çeşidinin besin madde içeriği açısından farklı olmadığını göstermiştir. GA21 mısır çeşidinin tanelerini içeren diyetler ile sıçanlar 90 gün süreyle beslenmiş ve olumsuz bir etki ortaya çıkmamıştır (EFSA, 2007, 2009a). Kimyasal bileşim analizleri Bt11 x GA21 mısır çeşidinde Cry1Ab, PAT ve mEPSPS proteinleri dışında yeni bir bileşenin sentezlenmediğini ve bu çeşidin kimyasal bileşiminde bir değişim olmadığını ortaya koymuştur. Moleküler karakterizasyon çalışmaları Bt11 (Cry1Ab ve PAT) ve GA21 (mEPSPS) anaç mısır çeşitlerindeki proteinlerin klasik melezleme yöntemiyle geliştirilen yeni çeşit mısırdaki da benzer seviye de bulunduğu göstermiştir.

Cry1F geni ve *pat* geni aktarılmış 1507 mısır çeşidi ile yapılan 90 günlük besleme denemesi sonucunda, besi performansında, klinik ve nörolojik bulgularda, oftalmolojik, hematolojik ve biyokimyasal parametrelerde, koagülasyon ve idrar analizi ile, organ ağırlıkları ve mikroskopik patolojide eşdeğer kontrollere göre önemli farklılıklar saptanmamıştır (MacKenzie ve ark., 2007).

Fransa'da yapılan bir araştırmada ise, *cry3Bb1* geni aktarılmış, kök kurduna dayanıklı transgenik mısır çeşidi ve klasik mısır çeşidinden oluşan kontrol çeşidi ile beslenen sıçanlarda 90 günlük deneme uygulanmıştır. 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; erkeklerde ise 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). Genetik yapısı değiştirilmiş mısırla 90 gün 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).

Amerika'da yapılan bir araştırmada, kök kurduna dayanıklılığı sağlayan *cry3Bb1* genini içeren transgenik mısır çeşidi ile sıçanlarda 90 gün süreyle besleme çalışması yapılmıştır. 400 sıçan cinsiyetlerine göre ayrılmış ve klasik mısır ile beslenenlerle karşılaştırmalı olarak deneme yürütülmüştür. Genel sağlık durumu, canlı ağırlık artışı, diyet tüketimi, klinik patoloji özellikleri (hematoloji, kan kimyası vb.), organ ağırlıkları ve dokuların mikroskopik görünüşleri değerlendirilmeye alınmıştır. Araştırma sonucunda, transgenik mısır çeşidinin, besleyicilik ve güvenilirlik bakımından, klasik mısır çeşitleri ile benzer olduğu vurgulanmıştır (Hammond ve ark., 2006).

Seralini ve ark. (2009) ile de Vendomois ve ark. (2009)'nın aksine kimi araştırmacılar genetik yapısı değiştirilmiş mısırların klasik mısırlar kadar güvenli olduğunu açıklamışlardır. Genetik yapısı değiştirilmiş mısır çeşitleri GA21 ve NK603 ile beslenen danalarda performans ve karkas özellikleri olumsuz etkilenmemiştir. Yani, genetik yapı değişiklikleri genel sağlık durumunu ve besi performansını etkilememiştir (Erickson ve ark., 2003).

Genetiği değiştirilmiş ürünlerle beslenen hayvanlarda yapılan deneysel çalışmalara ait bazı araştırma verileri Çizelge 2 de verilmiştir.

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

Mısır Bitkisi	Hayvan türleri	Çalışma süresi	Etkiler	Kaynaklar
MON863	Sıçanlar	90 gün	Erkek (%3.3 azalma) ve dişilerde (% 3.7 artış) değişik oranda doza dayalı ağırlık değişimleri. Hepatorenal toksisite belirtileri, dişilerde trigliserit artışı (% 24-40) ve erkeklerde idrarla 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 hematopoietik sistemde diğer yan etkilerde belirlenmiştir.	de Vendomois ve ark (2009)
Mısır 1507	Dawley sıçanları	90 gün	Deneme grupları arasında besi performansı, klinik ve sinirsel davranış belirtileri, oftalmoloji ile birlikte klinik patoloji, organ ağırlıkları, makroskopik ve mikroskopik patoloji bakımından anlamlı bir fark gözlenmemiştir	MacKenzie ve ark (2007)
Mısır 59122	Sıçanlar	90 gün	Vücut ağırlığı, diyet tüketimi, klinik toksisite belirtileri, ölüm, oftalmoloji, sinirsel davranış belirtileri 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 besi performansı, klinik ve sinirsel davranış belirtileri, oftalmoloji ile birlikte klinik patoloji, organ ağırlıkları, makroskopik 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 gözlenmiş ve bu durum yüksek konsantrasyonda mısır unu içeren diyetlerle beslenmelerine bağlanmıştır	He ve ark. (2008)
Y642 (lizin bakımından zengin)	Dawley sıçanları	90 gün	Vücut ağırlığı, diyet tüketimi, klinik kimya, hematoloji, ve organ ağırlıkları bakımından beslenme ile ilgili yan etki saptanmamıştır	He ve ark. (2009)

Çizelge 2 (devamı)

MR 604, MON 88107	----	-----	Hematolojik, morfolojik, biyokimyasal parametreler ve sistem hassas biyomarkörlerin 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 durumu, organ ağırlıkları, diyet tüketimi, dokuların mikroskobik görünümü açısından genetik yapısı değiştirilmemiş klasik mısır ile beslenen sıçanlardan farksız olduğu belirlenmiştir. Makroskobik ve mikroskobik 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 durumu, canlı ağırlık artışı, diyet tüketimi, klinik patoloji özellikleri (hematoloji, kan kimyası vb.), organ ağırlıkları ve dokuların mikroskobik görünüşleri incelenmiş ve araştırma sonucunda, transgenik mısır çeşidinin, besleyiciliği ve güvenliği bakımından, klasik mısır çeşitleri ile benzer olduğu vurgulanmıştır.	Hammond ve ark. (2006)

Dona ve Arvanitoyannis (2009) genetiği değiştirilmiş gıdalar ile ilgili yapılan pek çok çalışmanın sonuçlarını değerlendirdikleri araştırmalarında, bu gıdaların bazı belirli toksik etkilere sebep olduğunu bildirmiştir. Genetiği değiştirilmiş gıdaların güvenilirliğinin belirlenmesinde, potansiyel toksik etkilerinin olup olmadığının tespit edilmesi önemlidir. Herhangi bir toksik etkinin varlığı genetik modifikasyonun istenmeyen etkilerini tetikleyebilmektedir (Tyshko ve ark. 2007, 2008). GD ürünlerin insan gıdası olarak kullanıma sunulmasından önce daha etraflıca ve detaylı olarak çalışılması gerekmektedir. Bununla beraber, olası toksik etkilerin belirlenerek bir sonuca varılabilmesi için çok daha fazla çalışmanın yapılmasının gerekli olduğu düşünülmektedir. GD gıdaların mutagenез ve karsinogenezi ne şekilde etkilediğini belirlemek için gerekli olan benzer detayda testlerin yapılması gerekmektedir.

6.4. Alerjenite Değerlendirmesi

Bt11 x GA21 mısır çeşidi ve anaç çeşitler, genetiği değiştirilmemiş mısır çeşitleri ile karşılaştırıldığında alerjenik özellikte olmadığı bildirilmiştir (EFSA 2009b).

Bt11 x GA21 çeşidinde bulunan Cry1Ab, PAT ve mEPSPS proteinlerinin alerjenik olmadığı gösterilmiştir (EFSA 2009a). Bu sonuç mısırın genel alerjen gıdalar arasında olmayışı ve yalnızca özel coğrafik bölgelerdeki populasyonlarda mısır allerjenitesinin düşük bir oranda görülmesi ile desteklenmektedir. Biyoenformasyon analizlerine göre, Cry1Ab, PAT ve EPSPS proteinlerinin bilinen alerjen proteinler ile amino asit dizisi benzerliği bulunmadığı bilinmektedir (Herouet-Guichheney ve ark., 2009, Domingo ve Bordonaba, 2011). Cry1Ab bir protein olduğundan alerjenik potansiyeli olabileceği düşünülebilir. Ancak, mevcut bilimsel veriler genel gıda alerjenlerinin ısı, asit ve proteazlar ile parçalanmaya dayanıklı, glikozilleşebilen ve gıdalarda yüksek konsantrasyonlarda bulunduğunu göstermektedir. Ancak *in vitro* deneylerde Cry1Ab δ -endotoksininin mide sıvısında iki dakikada parçalandığı ve glikozilleşmediği gösterilmiştir (EFSA 2009b).

Cry1Ab ile birlikte, PAT ve mEPSPS proteinleri de asidik koşullarda kararsız olup, kolayca sindirilmektedirler. Bt11 x GA21 çeşidinde alerjenik olduğu bilinmeyen herhangi endojen bir proteinin sentezindeki muhtemel artış bitkinin alerjenik özelliğini değiştirmeyeceği gibi tüketiciler için de bir alerji riski olmayacağı belirtilmektedir (EFSA 2009b).

Genetiği değiştirilmiş mısır çeşitlerindeki Cry toksinlerinin ve nakledilen diğer genlerin şifrelediği proteinlerin hayvanlar üzerindeki toksik ve alerjen etkilerinde belirsizlikler mevcuttur. Genetiği değiştirilmiş az sayıda mısır çeşidinin hedef dışı canlılar üzerinde etkilerini gösteren çalışma bulunmaktadır (Tayabali ve Seligy, 2000). Bazı Cry proteinlerinin insan ve fare hücreleri için sitotoksik olduğu, böcekler için toksik olmadığı gösterilmiştir (Ito ve ark., 2004; Vázquez-Padrón ve ark., 2000). Bazı araştırma sonuçları *B. thuringiensis*'in sporlarının ve Cry toksinlerinin insan sağlığı için bir tehdit olmadığı veya özel bir toksisiteye sahip olmadığını ortaya koymuştur (Betz ve ark., 2000; He ve ark., 2008; Malley ve ark., 2007). Ancak son zamanlarda yapılan çalışmada *Bt* melez bitkilerin hücreye özgü toksik etkiye sahip olduğu ve alerjeniteye sebep olabilecek düzeyde immün tepkiye yol açtığı gösterilmiştir (Heinemann, 2010).

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. 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 sonuçları da zaman içinde ortaya çıkabileceğine işaret etmektedir. 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 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).

Bt11 x GA21 mısır çeşidinin ve genetiği değiştirilmemiş mısır çeşidinin tanelerinden ise proksimatlar, lif, nem, protein, yağ, kül, total karbonhidrat, toplam besinsel lif (TBL), ADL ve NDL, nişasta, yağ asitleri, mineraller (kalsiyum, bakır, demir, magnezyum, manganez, fosfor, potasyum, sodyum, selenyum ve çinko), vitamin (B1, B2 ve B6 vitaminleri, niasin, folik asit, β -karoten, E vitamini) ve vitamin öncüleri; fitik asit, rafinoz, tripsin inhibitörü ve diğer bileşenlerin (inositol, furfural, p-kumarik asit ve ferulik asit) miktarları analiz edilmiştir. Bt11 x GA21 mısır çeşidinin ve kontrol olarak kullanılan genetiği değiştirilmemiş mısır çeşidinin tanelerinin kimyasal analizinde bazı parametreler (yağ, E vitamini, palmitik asit vb) bakımından istatistiksel farklar ortaya çıkmasına rağmen her lokasyon için ayrı ayrı istatistik uygulandığında önemli bir fark ortaya çıkmamıştır. Bt11 x GA21 mısır çeşidinin amino asit içeriği ve protein miktarı bakımından genetiği değiştirilmemiş mısır çeşidi ile arasında önemli bir fark bulunmamıştır (Anonim, 2008).

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.

Çiftlik hayvanlarına yabancı DNA fragmantlarının transferine ait bazı çalışmalar Çizelge 3 de özetlenmiştir.

6.6. Çevresel Risk Değerlendirmesi

Bt11 x GA21 mısır çeşidiyle ilgili başvuru, mısır çeşidiyle ilgili başvuru, gıda amaçlı ithalat için yapılmıştır. Dolayısıyla çevre ve biyoçeşitliliğe ilişkin risk analizleri, taşıma ve gıda amaçlı işleme

sürecinde istem dışı çeşitli yollarla çevreye yayılma ile sınırlı tutulmuştur. Gen geçişinin potansiyel kaynakları tohum ve çiçek tozu olarak bilinmektedir. Mısır tohumlarının doğaya istem dışı taşınmalarının depolama, gıda işleme ve nakliye gibi süreçlerde ya da hayvanlar aracılığıyla gerçekleşebileceği düşünülmektedir.

Bt11 x GA21 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

B. thuringiensis Cry toksinini kodlayan genleri içeren mısır çeşitlerin insektisit kullanımını önemli derecede azalttığı ancak hedef olmayan omurgasızlar üzerinde olumsuz etkilere sahip olduğunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (Naranjo, 2009). 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

Cry1Ab proteinin çevreye bulaşması Bt11 x GA21 mısır çeşidi ile beslenen hayvanların gübre ve dışkısı ile sınırlıdır. Yapılan çalışmalar mısır tanesinde çok düşük miktarda Cry1Ab sentezlendiği için çevreye ancak çok düşük miktarda protein bulaştığını göstermiştir. Üstelik, Cry proteinlerinin bir çoğu mide-bağırsak kanalında enzimatik aktivite ile parçalandığından ancak çok az bir miktar protein (Cry1Ab) dışkı ile dışarı kaçmaktadır (Einspanier ve ark., 2004; Lutz ve ark., 2005; Wiedemann ve ark., 2006; Guertler ve ark., 2008). mEPSPS proteini de midenin asidik ortamında kararsız olup enzimatik olarak parçalanmaktadır. Genetiği değiştirilmiş Bt11 mısır çeşidi ile beslenen domuzların mide-bağırsak içeriğinde PCR ve immunolojik testler ile sindirilen mısırın DNA'sı ve Cry1Ab proteinine düşük miktarda rastlanmıştır (Chowdhury ve ark., 2003a). Dışkı ve gübre ile atılan Cry1Ab proteinin bir kısmı dış ortamda mikrobiyel işlem ile daha da parçalanmaktadır. Bu sebepten hedef organizmaların Cry1Ab proteini ile bulaşma düzeyi oldukça düşük olup biyolojik bir sorun oluşturmamaktadır. Hayvan artıkları veya istem dışı mısır tanelerinin çevreye yayılması sonucunda toprak ve suyun Cry1Ab proteini ile bulaşma ihtimali oldukça düşük ve lokal bir durumdur. Genetiği değiştirilmiş ürünlerden dolayı toprakta Cry proteinlerinin birikiminin olmadığını gösteren bir çok çalışma bulunmaktadır (Icoz ve Stotzky, 2008). EFSA raporları Cry1Ab proteinin Bt11 x GA21 mısır çeşidi ile beslenen hayvanların dışkı ve gübresi aracılığıyla çevreye bulaşarak hedef olmayan organizmaları da etkileyebileceğini belirtmektedir. Cry proteinlerinin

Çizelge 3. Çiftlik hayvanlarına yabancı DNA fragmantlarının 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 ve ark. (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 ve 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)

seçici olmaları sebebiyle muhtemel olarak etkilenebilecek hedef olmayan organizmalar; hedef organizmaların dahil olduğu benzer taksonomik gruba ait olan organizmalardır. Hedef organizmalar için belirtilen benzer nedenlerden dolayı hedef olmayan organizmaların da Cry1Ab proteini ile bulaşma düzeyi oldukça düşük olup biyolojik bir sorun oluşturmamaktadır.

Deneyisel bir çalışmada Cry1Ab protein içeren transgenik Bt mısır çeşidinin (Bt11) çiçek tozları ile beslenen bal arısı *Apis mellifera* (Hymenoptera)'nın larval ve pupal ölüm oranı, pupa ağırlığı, hemolenf protein konsantrasyonunda genetik yapısı değiştirilmemiş mısır çeşidinin çiçek tozu ile beslenilenlere göre önemli istatistiksel farklar ortaya çıkmamış ancak bu transgenik mısır çeşidi ile beslenen arı kovanlarının önemli zararlısı Lepidoptera takımına ait *Galleria mellonella* (Lepidoptera)'nın ölüm oranı artmıştır (Hanley ve ark., 2003). Buna karşılık, laboratuvar ve tarla denemelerinde Bt11 mısır çeşidinin çiçek tozu ile beslenen Lepidoptera takımına bağlı hedef olmayan bir tür, kral kelebeği *Danaus plexippus* L. populasyonu üzerinde önemli bir olumsuz etki görülmemiştir (Sears ve ark., 2001, Stanley-Horn ve ark., 2001). Bu çalışmada olumsuz bir etkinin görülmeşi Cry1Ab proteinin Bt11 mısır çeşidi çiçek tozunda düşük düzeyde ifade edilmesinden ileri geldiği belirtilmiştir. Bt11 mısır çeşidinin çiçek tozu, çiçek tozu başına ortalama 1,1-7,1 ng düzeyinde Cry1Ab proteini ürettiği (Sears ve ark., 2001), DAS1507 mısır çeşidinin poleni ise polen başına 31-33 ng düzeyinde Cry1F proteini ürettiği gösterilmiştir (EFSA, 2009b). Cry1Ab proteini transgenik mısır çeşitlerinde Lepidoptera takımına bağlı zararlı türlere karşı dayanıklılık kazandırdığından oldukça spesifik ve türe özgü bir etki söz konusudur. Bu protein Lepidoptera takımına bağlı hedef böceklerin orta bağırsak epitelindeki reseptörlerine yüksek bir ilgi ile bağlanmakta olup hedef olmayan diğer böcekler ve memelilerde ise reseptörleri bulunmamaktadır. Bt11 mısır çeşidi ile üç ay süreyle beslenen buzağılarda kontrol buzağılara göre önemli bir klinik, hematolojik, biyokimyasal ve ruminal anormallikler meydana gelmemiştir (Shimada ve ark., 2006). *mepsps* geninin aktarılmasıyla glifosat içeren herbisitlere toleranslı genetiği değiştirilmiş mısır çeşidi (GA21) ile beslenen sığırların performansı ve karkas özelliklerinin etkilenmediği belirtilmiştir. Bu çalışmanın sonucuna göre glifosat herbisitlere toleranslı GA21 mısır çeşidinin genetiği değiştirilmemiş mısır çeşidi ile besin öğelerinin kalitesinin aynı olduğu belirlenmiştir (Erickson ve ark., 2003). Taylor ve ark. (2003) GA21 mısır çeşidi ile besledikleri etlik piliçlerinin genetiği değiştirilmemiş mısır çeşidi ile besledikleri etlik piliçler ile karkas verimi ve et bileşiminin benzer olduğunu göstermişlerdir.

Eldeki mevcut bazı araştırma sonuçlarına göre genetiği değiştirilmiş melez mısır çeşitlerinin hayvanlar üzerinde olumsuz etkilerinin de olabileceği belirtilmiştir. Bu ürünlerin kontrolsüz ithal edilmesi, tüketicilerin bilinçlendirilmemesi veya yanlış kullanılmasından kaynaklanan muhtemel riskler oluşabilmektedir (Craig ve ark., 2008). Yem ve insan gıdası olarak kullanılan genetiği değiştirilmiş mısır çeşitlerinin bu organizmaların bazı dokularındaki kimyasal bileşim, hematolojik değerler ve kan biyokimyası gibi parametreler üzerinde sebep olduğu değişimler yanında metabolomik, proteomik ve transkriptomik değerleri üzerinde de önemli değişimlere sebep olduğu gösterilmiştir (Celini ve ark., 2004). Ayrıca genetiği değiştirilmiş mısır çeşitlerinin geliştirilmesi amacıyla kullanılan gen transformasyonu birkaç kuşak sonrasında çeşitli mutasyonlara neden olabileceği belirtilmiştir (Latham ve ark., 2006).

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. Amerika'nın önemli böcek türlerinden olan kral kelebekleri üzerine yapılan bir araştırmada, 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 meta analizi ile irdemiştir. Bu konuda yapılan tüm laboratuvar çalışmaları değerlendirildiğinde, hedef dışı olmayan 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 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 geçişi

Bt11 x GA21 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.

Bt11 x GA21 mısır çeşidinden diğer mısır çeşidine gen geçişi ürünün ekimi sırasında çiçek tozunun dağılması ile gerçekleşir. Avrupa'da mısırın eşeysel olarak üreyen yabancı akrabalarının bulunmaması sebebiyle, mısırdan diğer mısır populasyonlarına gen geçişi sınırlıdır (Eastham ve Sweet, 2002, OECD, 2003). Taşıma ve işleme sırasında istem dışı dağılan çiçek tozlarının diğer mısır alanlarına önemli miktarda dağılması ihtimali düşüktür. İspanya'da istem dışı dağılan çiçek tozlarının yetiştiği alanların gözlemlenmesi sonucunda yetişen mısırların güçlü olmadığı, nadiren koçan oluşturduğu ve ürettiği çiçek tozlarının komşu mısır bitkilerini çok düşük düzeyde tozladığı belirtilmiştir. Kore'de bazı genetiği değiştirilmiş mısırların ithal edilmesi, taşınması, depolanması, el ile ve teknoloji ile işlenmesi sırasında istem dışı dağılmasına bağlı olarak genetiği değiştirilmiş bu çeşitler üretim alanlarının dışında görülmüştür (Park ve ark., 2009).

Ancak, sorun sadece yabancı gen kaynakları ile sınırlı değildir. Mısır bitkileri yabancı döllenmiş ve çiçek tozlarını canlı olarak çok uzak mesafelere gönderebilen bitki türlerindedir. Bu nedenle, transgenik çeşitlerden klasik kültür çeşitlerine de gen geçiş olasılığı çok yüksektir.

Ancak tür içi rekabetin düşük olması, dormansinin bulunmaması ve bitki patojenlerine hassas olmaları gibi nedenlerden dolayı Avrupa'da mısır bitkisinin kültür alanları dışında yetişmesi oldukça sınırlıdır. Bu genel özellikler Bt11 x GA21 mısır çeşidinde değişmeden muhafaza edildiğinden, herbisit toleransı ve böceğe dayanıklılık özelliği kültür alanı dışında veya glifosinat amonyum ve/veya glifosat herbisitlerin uygulandığı Avrupa'daki diğer alanlarda bu mısır çeşidine seçici avantajlar sağlamayacaktır. Diğer taraftan Bt11 x GA21 mısır çeşidindeki *cry1Ab*, *pat* ve *mepsps* genlerinin diğer kültür bitkilerine geçişi ve ürünlerinin o bitkide ifade edilmesi bitkinin metabolizmasını, fenotipini ve tarımsal özelliklerini değiştirme ihtimali çok düşüktür. Örneğin, PAT proteinin substratı glifosinat amonyum herbisitidir. Cry1Ab proteini bir enzim değildir, bu nedenle bitki metabolizmasını etkileyemez. Modifiye EPSPS proteininin normal amino asit metabolizmasına olumsuz bir etkisi yoktur, tam tersine mEPSPS glifosat tarafından inhibe edilemediğinden genetik olarak değiştirilmiş bu mısır çeşidinden gen kaçışı olan bitki glifosat içeren herbisitlere karşı tolerans kazanabilmektedir.

Transgenik çeşitlerden diğer çeşit ve türlere doğrudan gen geçişleri üzerinde de farklı görüşler vardır. Bilindiği gibi, transgenik mısır çeşitleri (*Zea mays* ssp. *mays*) ile yabancı mısır çeşitleri (*Zea mays* ssp. *mexicana*), yakın akraba olduklarından, genetik olarak uyum sağlarlar. Bu nedenle, çiçek tozu aracılığı ile gen geçişlerinin mümkün olduğu ancak, izolasyon mesafesine dikkat edildiği sürece, bunun bir sorun oluşturmadığı belirtilmektedir. Örneğin, transgenik mısır çeşitlerinin yaygın olarak yetiştirildiği ABD ve Kanada'da yabancı mısır çeşidi bulunmadığından, bu ülkelerde riskin söz konusu olmadığı vurgulanmaktadır (Anonim, 2009).

6.6.3. Bitkiden bakteriye gen geçişi

GA21 mısır çeşidinde ifade edilen *mepsps* geni dışında, Bt11 x GA21 mısır çeşidinde ifade edilen diğer genlerin tümü (*Cry1Ab* ve *pat*) bakterilerden elde edilmiştir. Fonksiyonel genin kendisi zaten doğal çevredeki bakterilerde bulunduğu için, homolog rekombinasyonlar ve bu genlerin bakteriler tarafından alınması doğal mikrobiyal populasyonun gen havuzunda değişikliğe neden olmayacaktır. Bt11 x GA21 mısır çeşidindeki *cry1Ab*, *pat* ve *mepsps* genleri prokaryotik organizmalarda sınırlı aktiviteye sahip olan ökaryotik promotörlerin kontrolü altındadır (EFSA 2009b). Muhtemel bir transformasyonda genin ifadesi gerçekleşmeyecektir. Buna karşılık, genlerin intestinal mikroorganizmalarda veya insan ve hayvan hücrelerindeki muhtemel ifadelerinde, bu genlerin ürünlerinin (*Cry1Ab*, *pat* ve *mepsps*) substrat ve reseptörleri farklı olduğundan herhangi bir negatif etki gözlenmeyecektir. Örneğin PAT proteinin substratı glifosinat amonyum herbisitidir. *cry1Ab*, *pat* ve *mepsps* genlerinin orijini ile sindirim kanalı ve çevrede seçici baskının olmayışı göz önünde bulundurulduğunda bitkiden bakteriye gen geçişinin sebep olabileceği bakteri üzerindeki olumlu etkiler (mikroorganizmanın özelliklerinin iyileşmesi, ve diğer seçici avantajlar vb) oldukça düşük olacaktır. Bu yüzden Bt11 x GA21 mısır çeşidindeki genlerin çevredeki mikroorganizmaların veya insan ve hayvan sindirim sistemi hücrelerinin genomuna yerleşme ihtimali muhtemel değildir. Yani, aktarılan genin (transgenin), son derece olağan dışı bir şekilde aktarılması durumunda bile, insan ve hayvanlara zararlı olması beklenmemektedir. Buna karşılık, bazı çalışmalarda genetiği değiştirilmiş bitki türlerinden bakteriye gen geçişinin gerçekleştiğine dair kanıtlar da elde edilmiştir (Pontiroli ve ark., 2009, Nielsen ve ark., 1998).

Ayrıca, hayvan sağlığının güvenliği açısından ele alındığında, transformasyonda kullanılan vektör üzerindeki antibiyotik dirençlilik genlerinin transgenik mısır çeşidine geçmediği düşünülmesine rağmen, genetiği değiştirilmiş ürünlerin yem ve gıda olarak kullanılması sonucunda insan ve

hayvanlarda bazı antibiyotiklere dirençliliğine neden olabildiği gösterilmiştir (Goldstein ve ark., 2005). Örneğin insan tükürüğündeki plazmid DNA'sının bir süre sonrasında kaybolarak aynı ortamda bulunan *Streptococcus gordonii* DL1 suşlarının transformasyonuna neden olduğu tespit edilmiştir (Mercer ve ark., 1999).

Transgenik mısır bitkisinin, taşıma ve yem amaçlı işleme esnasında istem dışı, ya da bu ürün ile beslenen hayvanların sindirim sisteminden dışı ile çevreye doğrudan ya da dolaylı olarak yayılan Cry proteinlerinin toprak organizmalarına olan etkisi irdelendiğinde, transgenlerin antibiyotiklere dirençlilik bazı antibiyotiklere dirençlilik ve toksik özellikleri dikkat çekmektedir. Antibiyotiğe dirençli bir çok bakterinin, transgenik gıdalar tüketilmediği zaman da ortaya çıkabildiği bilinmektedir (Salyers, 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).

Amerika ve Fransa'da 1994 ve 1995 yıllarında yapılan tarla denemelerinde 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, 2009c).

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), böceklere 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, taşlıkta transgenik DNA saptamışlardır. Buna karşılık, bağırsaklarda böyle bir duruma rastlamamışlardır. Agodi ve ark. (2006), oniki 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 Wackernagel. 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 geçebilecekleri 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”, glifosinat amonyuma (PAT) ve glifosat’a (mEPSPS) toleranslı, Lepidoptera takımına ait bazı zararlı türlere (Cry1Ab) dayanıklı genetiği değiştirilmiş Bt11 x GA21 mısır çeşidinin gıda amaçlı ithal edilmesinin risklerini değerlendirmiştir. Bt11 x GA21 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 başvuru dosyasında yer alan dokümanlar, 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 ve hedef dışı organizmalara etkisi vb.) ile farklı ülkelerde kullanım durumları göz önünde bulundurulmuştur. Ayrıca bu genetiği değiştirilmiş çeşitle yapılan hayvan besleme çalışmaları incelenerek yalnızca gıda olarak kullanımı sonucu ortaya çıkabilecek riskler değerlendirilmiştir. Ek olarak, bu mısır çeşidinin ülkemizde istem dışı yayılması durumunda biyoçeşitliliği tehdit etmesine yönelik ortaya çıkabilecek olası çevresel riskler göz önünde bulundurulmuştur.

Risk değerlendirme Komitesi;

- Lepidoptera takımına ait bazı zararlı türlere dayanıklı ve glifosinat amonyum içeren herbisitlere toleranslı Bt11 ve glifosat içeren herbisitlere toleranslı GA21'in melezlenmesi ile elde edilen ve bu özelliklerin tümünü içeren melez mısır çeşidinde (Bt11 x GA21), her bir gen için gerçekleştirilen transformasyon ve sonrasındaki 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
- Bt11 x GA21 mısır çeşidinin geliştirilmesi sırasında gen transferinde kullanılan vektörlere [pZO1502 (Bt11) ve pDPG434 (GA21)] ait kodlayıcı DNA dizileri (ekson) ve kodlayıcı olmayan küçük DNA dizileri (intron) ile bakterilerde ampisilin direncini sağlayan *bla* (*amp* geni) geninin geliştirilen transgenik mısır çeşidine geçtiğine dair yeterince kanıt bulunmadığı,
- Bt11 x GA21 melez mısır çeşidinin gıda olarak kullanıldığında besin değerinin ve kimyasal bileşiminin, Cry1Ab, PAT ve mEPSPS proteinlerinin bulunması dışında, genetiği değiştirilmemiş ticari mısır çeşidi ile benzer olduğu, ancak herbisit uygulama rejimlerine bağlı olarak farklı çevre koşullarının etkili olabileceğinin göz ardı edilmemesi gerektiği,
- Aktarılan genlerin moleküler yapı ve ifadesi Bt11 ve GA21 mısır anaçları arasında yapılacak melezleme çalışmaları sırasında söz konusu genlerin birbirleriyle etkileşim içine girerek tarımsal değişikliklere neden olabilecek yeni proteinlerin sentezlenmesine yol açmayacakları; Bt11 x GA21 ikili melez mısır çeşidi ülkemizde gıda amaçlı

kullanılacağından ve üretimi yapılmayacağından, bu mısır çeşidinin, genetiği değiştirilmemiş mısır çeşidine göre hayatta kalma, çoğalma veya yayılma özellikleri bakımından bir değişime sahip olmadığı; tarımsal performansı ve fenotipik özellikler yönünden genetik olarak değiştirilmemiş eşdeğeriyle benzer olduğu,

- Bt11 x GA21 melez mısır çeşidinde bulunan Cry1Ab, PAT ve EPSPS proteinlerinin hayvan ve insanlarda zararsız olduğu ve bilinen toksin veya alerjen proteinler ile amino asit dizisi benzerliği buldurmadığı, toksisite ve alerjenite yönünden genetik olarak değiştirilmemiş eşdeğeriyle benzer olduğu, ancak potansiyel alerjenitenin göz ardı edilmemesi 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,
- mısırın yabancı döllenme özelliği nedeniyle, yayılacak genlerin çevresel etkileri açısından genetik yapısı değiştirilmiş melez mısır çeşidi ile genetik yapısı değiştirilmemiş mısır çeşitleri ve anaçları olan Bt11 ve GA21 arasında fark olmadığı; istem dışı oluşabilecek yayılmalardan gelişen bitkilerden, kültürü yapılan genetiği değiştirilmemiş mısır bitkisine veya diğer bitki türlerine ve bakterilere gen kaçışı ihtimalinin son derece düşük olacağı ancak hedef dışı organizmalara istem dışı yollarla gen geçişlerinin olabileceği

sonucuna varılmıştır.

Yukarıdaki açıklamaların ışığında genetiği değiştirilmiş Bt11 x GA21 mısır melez çeşidinin ‘gıda olarak’ kullanılmasının **UYGUN OLMADIĞINA OY ÇOKLUĞU İLE** karar verilmiştir.

8. Risk Yönetimi

Risk yönetiminin planlanması ve bu planının uygulanması “Bilimsel Risk Değerlendirme Komitesi”nin sorumluluğu dışındadır. Bt11 x GA21 mısır çeşidinin taşınma ve işlenmesi sırasında istem dışı 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, W.C., Becker, J.M. and Sadowsky, M.J., (2008). Mineralization of the *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac endotoxins in soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 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.php?book=ESA&ev=MON810.
- Anonim, (2008). GA21 maize for tolerance to herbicide products containing glifosat. 4 s.
- 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, A.I. and Shai, Y., (2001). Why *Bacillus thuringiensis* insecticidal toxins are so effective: unique features of their mode of action. *FEMS Microbiology Letters* 195: 1-8.
- Batista, R., and Oliveira, M.M., (2009). Facts and fiction of genetically engineered food. *Trends Biotech* 27: 5277-5286
- Bergelson, J., Purrington, C.B. 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. P. 106-108. *In: OECD Report on the Scientific Approaches for the Assessment of Research Trials with Genetically Modified Plants*. April 6-7, 1992. Jouy-en-Josas.
- Betz, F.S., Hammond, B.G. and Fuchs, R.L., (2000). 'Safety and Advantages of *Bacillus thuringiensis*-Protected Plants to Control Insect Pests'. *Reg. Toxicol. Pharmacol.* 32, 156-173.
- Bravo, A., Gill, S.S. and Soberon M., (2007). Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. *Toxicon*. 49(4):423-435. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1857359>.
- Broderick, N.A., Rafa, K.F., and Handelsman, J., (2006). Midgut bacteria required for *Bacillus thuringiensis* insecticidal activity. *Proceeding of the National Academy of Sciences USA* 103, 15196-15199.
- Cellini, F., Chesson, A., Colquhoun, I., Constable, A., Davies, H.V., Engel, K., Gatehouse, A.M.R., Karenlampi, S., Kok, E.J., Leguay, J.J., Lehesranta, S., Noteborn, H.P.J.M., 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, E.H., Kuribara, H., Hino, A., Sultana, P., Mikami, O., Shimada, N., Gruge, K.S., 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.
- Deaville, E.R., and Madison, B.C., (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, J.S., Roullier, F., Cellier, D. and Séralini G., (2009). A comparison of the effects of threeGM 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 homologyfacilitated illegitimated recombination. *Proc Natl Acad Sci USA* 99, 2094-2099.
- Domingo J.L., Bordonaba, J.G., (2011). A literature review on the safety assessment of genetically modified plants. *Environmental International*, 37, 734-742.
- Dona, A., and Arvanitoyannis, I.S., (2009). Health risks of genetically modified foods. *Crit Rev Food Sci Nutr* 49: 164-175.
- Duggan, P.S., Chambers, P.A., Heritage, J., Forbes, J.M., (2003). Fate of genetically modified maize DNA in the oral cavity and rumen of sheep. *Br J Nutr* 89 (2): 159-166.
- Eastham, K., Sweet, J., (2002). Genetically modified organisms (GMOs): the significance of gene flow through pollen transfer, European Environment Agency,
- EFSA, (2004). 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, (2005). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the notification (Reference C/F/96/05.10) for the placing on the market of insect-tolerant genetically modified maize Bt11, for cultivation, feed and industrial processing, under Part C of Directive 2001/18/EC from Syngenta Seeds. *The EFSA Journal* 213, 1-33, http://www.efsa.europa.eu/cs/BlobServer/Scientific_Opinion/gmo_op_ej213_bt11maize_cultivation_en10.pdf
- EFSA, (2007a). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on applications (references EFSA-GMO-UK-2005-19 and EFSA-GMO-RX-GA21) for the placing on the market of glyphosate-tolerant genetically modified maize GA21, for food and feed uses, import and processing and for renewal of the authorisation of maize GA21 as existing product, both under Regulation (EC) No 1829/2003 from Syngenta Seeds S.A.S. on behalf of Syngenta Crop Protection AG. *The EFSA Journal* 541, 1-25,
- 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). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on application EFSA-GMO-RX-Bt11 for renewal of the authorisation of existing products produced from

- insect-resistant genetically modified maize Bt11, under Regulation (EC) No 1829/2003 from Syngenta. The EFSA Journal 977, 1-13,
- EFSA, (2009b). Scientific opinion on application (EFS-GMO-UK-2007-49) for the placing on the market of the insect resistant and herbicide tolerant genetically modified maize Bt11xGA21 for food and feed uses, import and processing under regulation (EC) No 1829/2003 from Syngenta Seeds. EFSA Journal 7(9), 1319. 1346
- 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, Mayer J, (2004). Tracing residual recombinant feed molecules during digestion and rumen bacterial diversity in cattle fed transgenic maize. *European Food Research and Technology* 218, 269-273.
- Erickson, G., Robbins, N., Simon, J., Berger, L., Klopfenstein, T., Stanisiewski, R., Hartnell, G., (2003). Effect of Feeding Glyphosate-tolerant - Roundup-Ready® - Events GA21 or NK603 - Corn Compared With Reference Hybrids on Feedlot Steer Performance and Carcass Characteristics. *Journal Animal Science*. 81: 2600-2608.
- 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.
- Funke, T. Han, H., Healy-Fried ML et al., (2006). Molecular basis for herbicide resistance of Roundup Ready crops. *Proceeding of the National Academy of Sciences USA* 103, 13010-13015.
- 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.
- Goldstein, D.A., B. Tinland, L.A. Gilbertson, J.M. Staub, G.A. Bannon, R.E. Goodman, R.L. McCoy and Silvanovich, A., (2005). Human safety and genetically modified plants: a review of antibiotic resistance markers and future transformation selection Technologies. *Journal of Applied Microbiology*, 99, 7–23
- Gore, J., Leonard, B.R. Church, G.E., Cook, D.R., (2002). Behaviour of Bollworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae on genetically engineering cotton. *J. Econ. Entomol.* 95, 763-769.
- Guertler, P., Lutz, B., Kuehn, R., Meyer, H.H.D., Einspanier, R., Killermann, B, Albrecht C., (2008). Fate of recombinant DNA and Cry1Ab protein after ingestion and dispersal of genetically modified maize in comparison to rapeseed by fallow deer (*Dama dama*). *European Journal of Wildlife Research* 54, 36-43.
- Habustova, O., F. Turanli, P. Dolezal, V. Ruzicka, L. Spitzer, H. Hussein, (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.
- Hanley, A.V., Huang, Z.Y., Pett, W.L. (2003). Effects of dietary transgenic Bt corn pollen on larvae of *Apis mellifera* and *Galleria mellonella*. *J. Apicul. Res.* 42, 77-81.
- He, X.Y., Huang, K.L., Li, X., Qin, W., Delaney, B. and Luo, Y.B., (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, X.Y., Tang, M.Z., Luo, Y.B., Li, X., Cao, S.S. and Yu, J.J., (2009). A 90-day toxicology study of transgenic lysine-rich maize grain (Y642) in Sprague–Dawley rats. *Food Chem Toxicol* 47: 425–32.
- Heinemann, J. A. (2010). Potential human health risks from Bt plants. Biosafety Briefing. www.twinside.org.sg, 8 pp.
- Herouet-Guichheney C., Rouquié D, Freyssinet M, Currier, T., Martone, A., Zhou, J. et al., (2009). Safety evaluation of the double mutant 5-enol pyruvylshikimate-3-phosphate synthase (2mEPSPS) from maize that confers tolerance to glifosat herbicide in transgenic plants. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*,54,143-153.
- Hilbeck, A., Baumgartner, M., Fried, P.M. and Bigler, F., (1998). Effect of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn-fed prey on mortality and development time of immature *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environmental Entomology*, 27: 480-487.
- Icoz I, Stotzky G, (2008). Fate and effects of insect-resistant Bt crops in soil ecosystems. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 559-586.
- Ito, A., Sasaguri, Y., Kitada, S., Kusaka, Y., Kuwano, K., Masutomi, K., Mizuki, E., Akao, T. and Ohba, M. (2004). 'A *Bacillus thuringiensis* crystal protein with selective cytotoxic action to human cells'. *J. Biol. Chem.* 279, 21282-21286.
- James, C. (2007). Global status of commercialised biotech/GM crops. 2007. ISAAA Briefs No. 37 (<http://www.isaaa.org>).
- Jonas, D.A., Elmadfa, I., Engel, K.H., Heller, K.J., Kozianowski, G., König, A., Müller, D., Narbonne, J.F., Wackernagel, W. and Kleiner, J., (2001). Safety considerations of DNA in food. *Ann. Nutr. Metab.*, 45: 235–254.
- Kleter, G.A. and Kok, E.J., (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, G.A. and Peijnenburg A.A.C.M., (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. *Applied and Environmental Microbiology* 63 (9): 3561-3568.
- Latham, J. R., Allison K.Wilson, and Ricarda, A., Steinbrecher, A. (2006). The Mutational Consequences of Plant Transformation. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 25376, 1–7
- Losey, J.E., Rayor, L.S. and Carter, M.E., (1999). Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature* 399:214.

- Lutz B, Wiedermann S, Einspanier R, Mayer J, Albrecht C, (2005). Degradation of Cry1Ab protein from genetically modified maize in the bovine gastrointestinal tract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 1453-1456.
- MacKenzie SA, Lamb I, Schmidt J, Deege L, Morrissey MJ, Harper M et al. (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, L. A., Everds, N. E., Reynolds, J., Mann, P. C., Lamb, I., Rood, T., Schmidt, J., Layton, R. J., Prochaska, L. M., Hinds, M., et al. (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.
- Mazza, R., Soave, M., Morlacchini, M., Piva, G. and Marocco, A. 2005. Assessing the transfer of genetically modified DNA from feed to animal tissues. *Transgenic Research*, 14, 775–784.
- Mercer, D. K., Scott, K. P., Bruce-johnson, W. A., Glover, L. A., Flint, H. J. (1999). Fate of Free DNA and Transformation of the Oral Bacterium *Streptococcus gordonii* DL1 by Plasmid DNA in Human Saliva, *Applied and Environmental Microbiol.*, 65, 6–10
- Moreau, G. and Bauge, É. (2003). Lethal and sublethal effects of single and double applications of *Bacillus thuriangiensis* variety *kurstaki* on spruce budworm (Lepidoptera: Tortricidae) larvae. *J. Econ. Entomol.* 96, 280-286.
- Naranjo, S.E., (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 p.
- Nielsen, K. M., Atle M. Bones, Kornelia Smalla, Jan D. van Elsas. (1998). Horizontal gene transfer from transgenic plants to terrestrial bacteria - a rare event? *FEMS Microbiology Reviews* 22, 79-103
- OECD, (1999). Consensus document on general information concerning the genes and their enzymes that confer tolerance to phosphinothricin herbicide.
- 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 considerations for new varieties of maize (*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), No. 6: 1-42, [http://www.oilis.oecd.org/oilis/2002doc.nsf/LinkTo/NT00002F66/\\$FILE/JT00130429.PDF](http://www.oilis.oecd.org/oilis/2002doc.nsf/LinkTo/NT00002F66/$FILE/JT00130429.PDF)
- OECD, (2003). Consensus document on the biology of *Zea mays* subsp. *mays* (Maize). Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology (ENV/JM/MONO(2003)11), No. 27: 1-49, [http://www.oilis.oecd.org/oilis/2003doc.nsf/LinkTo/NT0000426E/\\$FILE/JT00147699.PDF](http://www.oilis.oecd.org/oilis/2003doc.nsf/LinkTo/NT0000426E/$FILE/JT00147699.PDF)
- 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.
- Park KW, Lee B, Kim C-G, Kim DY, Park J-Y, Ko EM, Jeong S-C, Choi KH, Yoon WK, Kim HM, (2009). Monitoring the occurrence of genetically modified maize at a grain receiving port and along transportation routes in the Republic of Korea. *Food Control*, DOI:10.1016/j.foodcont.2009.07.006.

- Paul, V., Steinke, K. and Meyer, H.H.D. 2008. Development and validation of a sensitive enzyme immunoassay for surveillance of Cry1Ab toxin in bovine blood plasma of cows fed Bt-maize (MON810). *Analytica Chimica Acta*, 607, 106–113.
- Pawlowski, W.P. and Somers, D.A., (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.
- Pontiroli, A., Aurora Rizzi, Pascal Simonet, Daniele Daffonchio, Timothy M. Vogel, Jean-Michel, M., (2009). Visual Evidence of Horizontal Gene Transfer between Plants and Bacteria in the Phytosphere of Transplastomic Tobacco. *Applied and Environmental Microbiol.*, 75, 3314–3322.
- Prescott, V.E. and Hogan, S.P., (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.
- 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 commercial cultivation. *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. *Bio/Technology*, 13: 1094–1098.
- Sears, M. K., Hellmich, R.L., Stanley-Horn, D. E., Oberhauser, K. S., Pleasant, J. M., Mattila, H. R., Segried, B. D., Dively, G. (2001). Impact of Bt corn pollen on monarch butterfly populations: a risk assessment. *Proceeding of National Academy of sciences of the USA*, 98, 11937-11942.
- Shimada, N., Murata, H., Mikami, O., Yoshioka, M., Guruge, K., Yamanaka, N., Nakajima, Y., Miyazaki, S. (2006). Effects of Feeding Calves Genetically Modified Corn Bt11: A Clinico-Biochemical Study. *Journal Veterinarian Medical Science*. 68(10): 1113-1115
- Smalla, K., Wellington, E. and van Elsas, J.D., (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, O.D.,(1999). Single-copy transgenic wheat generated through the resolution of complex integration patterns. *Pros Nat. Acad. Sci. USA*, 96: 11117-11121.
- Stanley-Horn, D. E., Dively, G. P., Hellmich, R.L., Mattila, H. R., Sears M. K., Rose, R., Jesse, L. C. H., Losey, J. E., Obrycki, J. J., Lewis, L., (2001). Assessing the impact of Cry1Ab-expressing corn pollen on monarch butterfly larvae in field studies. *Proceeding of National Academy of sciences of the USA*, www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.21127798

- Tayabali, A. F. and Seligy, V. L. (2000). 'Human cell exposure assays of *Bacillus thuringiensis* commercial insecticides: production of *Bacillus cereus*-like cytolytic effects from outgrowth of spores'. *Environ. Health Perspect.* 108, 919-930.
- Taylor, M., Hartnell, G., Riordan, S., Nemeth, M., Karunanandaa, K., George, B., Astwood, J. (2003). Comparison of Broiler Performance When Fed Diets Containing Grain from Yieldgard® MON810, Yieldgard® X Roundup Ready® - GA21, Nontransgenic Control, or Commercial Corn. *Poultry Science.* 82: 823-830.
- 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
- Wahl GM, de Saint Vincent BR and de Rose ML., (1984). Effect of chromosomal position on amplification of ransfected genes in animal cells. *Nature* 307: 516-520.
- Van den Eede, G., Aarts, H., Buhk, H.J., Corthier, G., Flint, H.J., 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.
- Vázquez-Padrón, R. I., González-Cabrera, J., García-Tovar, C., Neri-Bazan, L., Lopéz-Revilla, R., Hernández, M., Moreno- Fierro, L. and de la Riva, G. A. (2000). 'Cry1Ac protoxin from *Bacillus thuringiensis* sp. *kurstaki* HD73 binds to surface proteins in the mouse small intestine'. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 271, 54-58.
- Whalon, M. E. and Wingerd, B.A., (2003). Bt: Mode of action and use. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 54, 200-211.
- Wiedemann S, Lutz B, Kurtz H, Schwarz FJ, Albrecht C, (2006). In situ studies on the time-dependent degradation of recombinant corn DNA and protein in the bovine rumen. *Journal of Animal Science* 84, 135-144.
- Woods, H. A. and Kingsolver, J. G. (1999). Feeding rate and the structure of protein digestion and absorption in lepidopteran midguts. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 42,74-87.
- Zhang, X., Candas, M., Griko, N.B., Taussig, R. and Bulla, L.A., (2006). A mechanism of cell death involving an adenylyl cyclase/PKA signaling pathway is induced by the Cry1Ab toxin of *Bacillus thuringiensis*. *Proceedings of the National Academies of Science (U.S.A.)* 103 (26): 9897-9902.