

RAPOR :

## **GIDA AMACIYLA İTHALİ İSTENEN GENETİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ DAS1507xNK603 MISIR ÇEŞİDİ VE ÜRÜNLERİ İÇİN BİLİMSEL RİSK DEĞERLENDİRME RAPORU**

### **RAPORUN HAZIRLANIŞ GEREKÇESİ VE DAYANAKLARI**

Bu rapor, Lepidopter mısır kurtlarına (*Ostrinia nubilalis* ve *Sesamia* spp.) dayanıklı ve glifosinat amonyum ile glifosat herbisitlerine tolerant genetiği değiştirilmiş (GD) DAS1507xNK603 mısır çeşidinin gıda amaçlı ithalatı için, 5977 sayılı Biyogüvenlik Kanunu ve ilgili yönetmelik uyarınca Biyogüvenlik Kurulunun 03.03.2011 tarih ve 6 nolu kararı ile oluşturulan ve bu karar doğrultusunda görevlendirilen Bilimsel Risk Değerlendirme Komitesi tarafından hazırlanmıştır. Rapor hazırlanırken çeşitle ilgili bilimsel araştırmaların sonuçları, risk değerlendirilmesi yapan muhtelif kuruluşların (EFSA, WHO, FAO, FDA) görüşleri ve ithalatçı firmaca dosyada sunulan belgeler ile farklı ülkelerde üretim ve tüketim durumları göz önünde bulundurulmuştur. Risk değerlendirmesi gen aktarım yöntemi, aktarılan genin moleküler karakterizasyonu ve ürettiği proteinin ekspresyonu, çeşidin muhtemel alerjik, toksik ve çevresel riskleri ile gıda işleme teknolojileri dikkate alınarak yapılmıştır.

### **İTHALATÇI KURULUŞ**

Türkiye Gıda ve İçecek sanayi Dernekleri Federasyonu İktisadi İşletmesi (TGDF)

### **İTHAL EDİLMEK İSTENEN ÇEŞİT VE ÜRÜNLERİ**

Lepidoptera takımındaki mısır kurtlarına dayanıklı ve glifosinat amonyum ile glifosat herbisitlerine tolerant genetiği değiştirilmiş DAS1507xNK603 kodu ile tanımlanan GD mısır ve ürünleri

### **ÇEŞİDİ GELİŞTİREN KURULUŞ**

Pioneer / Dow AgroScience

### **ÇEŞİDİN GELİŞTİRİLMİŞ AMACI VE ÜRETİMİ**

Kültür bitkilerinin ışık, su ve besin maddelerine ortak olarak önemli oranda verim ve kalite düşüklüğüne neden olan yabancı otlarla mücadele genel olarak çapalama, elle yolma ve kimyasal herbisitlerle yapılmaktadır. Yapılan yoğun mücadeleye rağmen yine de yabancı otlar tarım alanlarında önemli oranlarda verim kaybına ve ürün kalitesinin düşmesine neden olmaktadır. Klasik ıslah yöntemleriyle bazı bitki türlerinde herbisitlere dayanıklı çeşitler geliştirilmiş olmakla birlikte, az sayıda türle sınırlı kalmıştır. Öte yandan son yıllarda geliştirilen biyoteknolojik yöntemlerle *bar/pat* veya *epsps* gibigenlerin bitkilere aktarılmasıyla glifosinat amonyum ve glifosat herbisitlerine toleranslı GD bitkiler kolaylıkla elde edilebilmektedir. Dünyada 2010 yılında geniş spektrumlu glifosinat amonyum ve glifosat herbisitlerine toleranslı (HT)

soya üretimi 73 milyon hektara ulaşırken, HT kolza üretimi ise 7 milyon hektar civarında olmuştur (James 2011). Aynı şekilde HT şeker pancarı ve yonca tarımı da yaygınlaşırken, son yıllarda hem böceklere dayanıklı (*Bt*) hem de HT mısır ve pamuk bitkilerinin üretiminde önemli artışlar gözlenmektedir. Genel olarak HT bitkilerin üretildiği alanlarda verimde önemli artışlar gözlenmezken, seçici herbisitlerle mücadelesi zor olan bazı yabancı otların kontrol edilmesinde HT bitkiler başarılı bir şekilde üretilebilmekte ve verim artışı sağlanabilmektedir (Brookes ve Barfoot 2005). HT bitkilerin getirmiş olduğu en önemli avantajlar ise işçilik, mekanizasyon ve akaryakıt maliyetlerindeki azalmadır (Özcan 2011).

Bu başvuruda, mısır kurtlarına dayanıklı ve glifosinat ile glifosat herbisitlerine tolerant GD DAS1507xNK603 mısır çeşidi için '**gıda amaçlı ithal izni**' talep edilmektedir. GD DAS1507 mısır çeşidine esas olarak *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* hattından izole edilen ve mısır kurtlarına dayanıklılığı sağlayan **cry1F** ile glifosinat amonyum herbisitine karşı toleransı sağlayan *Streptomyces viridochromogenes* kökenli fosfotrisin asetil-transferaz (**pat**) genleri aktarılırken, NK603 çeşidine ise *Agrobacterium tumefaciens*'den izole edilen ve **glifosat** herbisitine toleransı sağlayan **cp4 epsps** geni aktarılmıştır. Aynı ayrı elde edilen her iki çeşit, normal ıslah yöntemleriyle melezlenerek tüm özellikler GD DAS1507xNK603 melez mısır çeşidinde toplanmıştır.

## RİSK ANALİZİ VE DEĞERLENDİRMESİ

GD DAS1507xNK603 mısır ve ürünlerine ait bilimsel risk analiz ve değerlendirilmesi, bu çeşidin geliştirilmesinde kullanılan gen aktarım yöntemi, aktarılan genin moleküler karakterizasyonu ve ürettiği protein, besin değeri, olası alerjik/toksik etkiler, çevreye kaçıışı ve gıda işleme teknolojileri ile oluşabilecek riskler dikkate alınarak yapılmıştır.

Bu çeşitle ilgili bilimsel risk değerlendirilmesi yapılırken, bilimsel araştırmaların sonuçları (alerjik ve toksik etki analizleri, genetik modifikasyonun stabilitesi, morfolojik ve agronomik özellikler, hedef dışı organizmalara etkisi vb.) risk değerlendirilmesi yapan kuruluşların (EFSA, WHO, FAO, FDA) raporları ve çeşitle ilgili ithalatçı firmaca dosyada sunulan belgeler ile farklı ülkelerde üretim ve tüketim durumları göz önünde bulundurulmuştur. Bu GD mısır çeşidiyle yapılan hayvan besleme çalışmaları da incelenerek, gıda olarak tüketilmesi sonucu ortaya çıkabilecek riskler değerlendirilmiştir. Ayrıca bu çeşide ait tohumların kaza ile doğaya yayılması durumunda ortaya çıkabilecek tarımsal ve çevresel riskler de dikkate alınmıştır.

### Moleküler Genetik Yapı Karakterizasyonu ve Risk Analizi:

GD DAS1507 mısır çeşidine esas olarak *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* hattından izole edilen ve özellikle Lepidoptera takımından mısırkurdu (*Ostrinia nubilalis*) ve mısır koçan (*Sesamia* spp.) kurtlarına dayanıklılığı sağlayan **cry1F** ile glifosinat amonyum herbisitine karşı toleransı sağlayan *Streptomyces viridochromogenes* kökenli fosfotrisin asetil-transferaz (**pat**) genleri aktarılırken, GD NK603 çeşidine ise *Agrobacterium tumefaciens*'den izole edilen ve **glifosat** herbisitine toleransı sağlayan **cp4 epsps** geni aktarılmıştır. Aynı ayrı elde edilen her iki çeşit, normal ıslah yöntemleriyle melezlenerek mısır kurtlarına dayanıklılık ile

glifosinat amonyum ve glifosat herbisitlerine toleranslılık GD DAS1507xNK603 mısır çeşidinde birleştirilmiştir.

## GD DAS1507

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

Taşıyıcı olarak pHP8999 vektörüne öncelikle *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* orijinli **cry1F** ve bu geni kontrol eden ubiquitin promotör *ubiZM1* ve *Agrobacterium tumefaciens* orijinli mannopin sentez genine ait terminator bölgesi ve glifosinat herbisitine toleransı sağlayan *Streptomyces viridochromogenes* orijinli **pat** geni ile bu geni kontrol eden karnabahar mozayik virüsüne ait **35S** promotör ve terminatör bölgeleri klonlanmıştır. Klonlamadan önce her iki genin kodlama bölgesi mısırdaki yüksek düzeyde ifadesi için optimize edilmiştir. Daha sonra bu vektör **Pme I** enzimiyle kesilerek 6235 bp ve 3269 bp olmak üzere iki parçaya ayrılmıştır. pHI8999A olarak isimlendirilen ve *cry1F* ile *pat* ekspresyon kasetlerini içeren büyük vektör parçası jel elektroforezi işleminden sonra saflaştırılmıştır. Saflaştırılan pHI8999A vektör parçası **partikül bombardımanı** ile embriyogenik Pioneer Hi-II mısır hücrelerine aktarılmıştır (Cambers ve ark 1991, OECD 1999, EFSA 2005).

- **Aktarılan genlerin moleküler yapı, ekspresyon ve stabilite analizleri**

Yapılan Southern blot analizinde GD DAS1507 mısır çeşidinde *cry1F* ve *pat* ifade kasetlerinin tam ve tek kopya olarak bitki genomuna entegre olduğunu, kaset içerisinde yeni bir düzenlemenin olmadığı ve vektörden herhangi bir DNA parçasının bitki genomuna geçmediği belirlenmiştir. Ancak, yapılan analizlerde bitki genomunda aktarılan pHI8999A DNA parçasının 5' ucunda parça halinde ve 335 bp uzunluğunda ikinci bir *cry1F* dizininin ve yine tam olmayan *pat* geni, mısır ubiquitin promotörü ile mannopin sentez terminatör bölgeleri de bulunmuştur. Ayrıca, PCR analiz sonuçları da pHI8999A'nın bitki kromozomuna yerleştiği noktalarda DNA eksilmelerinin olmuş olabileceğini işaret etmiştir. Ancak, böyle bir parça eksilmesi gen aktarımı yapılan mısır hattında fenotipik bir değişikliğe yol açmamıştır. İlave olarak, aktarılan genlerin nesiller boyunca da stabilitesini devam ettirdiği gözlenmiştir.

Cry1F ve PAT proteinlerinin DAS1507 mısır çeşidinin farklı organlarındaki ifade düzeyleri Western ve ELISA testleriyle belirlenmiştir. Western analizinde farklı bitki dokularından izole edilen toplam protein içeriğinde beklenen 66 kDa Cry1F proteinine eşdeğer 65-68 kDa büyüklüğünde iki bant elde edilmiştir. En yüksek Cry1F protein üretimi ortalama 20 ng/mg (kuru doku ağırlığı) ile polenlerde bulunmuştur. Tüm bitki ekstraktında Cry1F protein miktarı 1.0 ile 6.9 ng/mg olurken, bu değer tohumlarda 1.2-3.1 ng/mg aralığında değişmiştir. Cry1F protein ifadesi glifosinat uygulamasından etkilenmemiştir. Alınan yaprak örneklerinde PAT proteininin Western immunoblot analizinde beklendiği şekilde yalnızca 22 ve 43 kDa büyüklüğünde iki bant elde edilmiştir. Ölçülebilen PAT protein ifadesi yapraklarda (0-136.8 pg/μg toplam protein) ve tüm bitkide (0-38.0 pg/μg toplam protein) bulunmuştur. Tohumlarda ise PAT protein seviyesi ise ölçülebilen miktarın altında kalmıştır. Ancak partikül bombardımanı farklı protein anlatımına sebep olan ek genom değişikliklerini tetiklemektedir. GD mısır ile izogenik kontrolüne ait ürünlerinin proteomik profilleri karşılaştırıldığında protein anlatım seviyelerinde farklılık bulunduğu (EFSA 2009) ve bu tespit edilen farklılığın partikül bombardımanı sonucunda genom değişimiyle ilişkili

olduğu ifade edilmektedir. İzogenik kontrollerine göre aynı çevre şartlarına farklı yanıtlar oluşturan transgenik hatların tek bir ekstra genin insersiyonu sonucunda genomlarında yeni düzenlenmeler ortaya çıktığı gösterilmiştir (Zolla ve ark 2008, Bauer-Panskus ve Then 2010).

## GD NK603

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

Taşıyıcı vektör olarak PV-ZMGT32 kullanılmıştır. Vektör birbirine bitişik ve *Arabidopsis thaliana epsps* DNAdizileri esas alınarak oluşturulan kloroplast peptid transfer dizisine (**CTP**) bağlanmış ve her birinde tek kopya halinde *Agrobacterium tumefaciens*'in CP4 suşu kökenli **cp4 epsps** (5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase) geni bulunan iki bitki eksperasyon kasetinden oluşmuştur. CTP, *epsps* genine ait proteinin kloroplastlarda lokalizasyonunu sağlamaktadır. İlk *ctp2-cp4 epsps* kasetinde, kodlama bölgesi 5' CTP ucuna bağlanan çeltik aktin promotör ve çeltik intron dizileri tarafından kontrol edilmektedir. İkinci kasette ise, *ctp2-cp4 epsps* dizileri, karnabahar mozaik virüsü (CaMV) geliştirilmiş 35S promotör ile mısır hp proteinini kodlayan genden türetilen intron tarafından düzenlenmiştir. Her iki kasette de *Agrobacterium tumefaciens*'in nopalın sentez genine ait (NOS 3') diziler terminatör olarak kullanılmıştır. Ayrıca PV-ZMGT32 vektörü, bakteriyel seçici markör gen olarak Tn5 transpozonuna ait *nptII* genini taşımaktadır. Bu vektör, *nptII* geni dışarıda kalacak şekilde *MluI* enzimiyle kesilerek, sadece ekspresyon kasetlerini içeren ve PV-ZMGT32L olarak adlandırılan DNA parçası elde edilmiştir. Safılaştırılan PV-ZMGT32L **partikül bombardımanı** ile embriyonik mısır hücrelerine aktararak GD NK603 mısır çeşidi elde edilmiştir (EFSA 2003).

- **Aktarılan genlerin moleküler yapı, ekspresyon ve stabilite analizleri**

Yapılan moleküler analizlerde GD NK603 çeşidinin her iki *ctp2-cp4 epsps* ekspresyon kasetini de taşıdığı ve ilk kasette değişiklik olmazken, ikinci kasette 2 nükleotidlik bir değişiklik meydana gelerek 214. amino asit pozisyonunda prolininin yerine lösin üretilmiştir. Yapılan Southern blot ve PCR analizlerinde PV-ZMGT32L DNA parçasının tek kopya halinde bitki genomuyla birleştiği ve plazmid DNA'ya ait başka DNA parçasının bitki genomuyla birleşmediği belirlenmiştir. Aktarılan DNA parçasında ufak çaplı bazı yeni düzenlemeler oluşmuş ise de, gen ifadesini etkilememiş ve gen aktarımı yapılan mısır hattında fenotipik bir değişikliğe yol açmamıştır. İlave olarak, aktarılan genlerin nesiller boyunca da stabilitesini devam ettirdiği gözlenmiştir (EFSA 2003). Ancak partikül bombardımanı farklı protein anlatımına sebep olan ek genom değişikliklerini tetiklemektedir. GD mısır ile izogenik kontrolüne ait ürünlerinin proteomik profilleri karşılaştırıldığında protein anlatım seviyelerinde farklılık bulunduğu ve bu tespit edilen farklılığın partikül bombardımanı sonucunda genom değişikliğiyle ilişkili olduğu ifade edilmektedir. İzogenik kontrollerine göre aynı çevre şartlarına farklı yanıtlar oluşturan transgenik hatların tek bir ekstra genin insersiyonu sonucunda genomlarında yeni düzenlenmeler ortaya çıktığı gösterilmiştir (Zolla ve ark 2008, Bauer-Panskus ve Then 2010).

## GD DAS1507 X NK603

GD DAS1507 ve NK603 mısır hatları melezlenerek Lepidoptera takımındaki böcekler dayanaklı ve iki farklı herbisite tolerant DAS1507xNK603 çeşidi elde edilmiştir. Yürütülen DNA-DNA melezlemesi (Southern blot) analizlerinde bazı yeni düzenlemelerin olduğu gösterilmiş ise de, GD DAS1507 ve NK603'e ait genetik materyalin DAS1507xNK603'te birleştiği ve aktarılan genlerin korunduğu teyit edilmiştir (EFSA 2006).

Şili'de yürütülen denemelerden elde edilen yeşil ve tohum materyalinde Cry1F, PAT, ve CP4 EPSPS proteinlerinin ifade düzeyine bakılmıştır. Tohumlarda PAT proteinine rastlanmazken, protein miktarları kuru ağırlık üzerinden Cry1F için 1.37-1.57 ng/mg ve CP4 EPSPS içinde 6.62-8.25 ng/mg arasında bulunmuştur.

**Sonuç olarak;** Daha önce GD DAS1507 ve NK603 çeşitlerinde ayrı ayrı genetik stabilite belirlendiği şekilde, ilgili genler GD DAS1507xNK603 çeşidinde birleşmiş ve genetik yapı ile protein üretimi yeni çeşitte korunmuştur. Ancak partikül bombardımanı nedeniyle GD mısır ile izogenik kontrollüne ait ürünlerinin proteomik profilleri karşılaştırıldığında protein anlatım seviyelerinde farklılık vardır. Bu protein profillerindeki değişimler göz önüne alındığında gıda güvenliği için bu proteinlerin de araştırılması gerekmektedir.

## Kimyasal Bileşim ve Tarımsal Özelliklerin Risk Analizi

- **Kimyasal Bileşim Analizi**

### GD DAS1507

Tarla denemelerinden sağlanan bitkilerin farklı kısımlarında; lif bileşenleri, mineraller, vitaminler, amino asitler, yağ asitleri, protein ve diğer besin madde bileşenleri, ADF, NDF, fitik asit, tripsin inhibitörleri, furfural ve ferulik asit, p-kumarik asit, inositol ve rafinoz analizleri yapılmıştır. Bu analizlerde, GD DAS1507 mısır çeşidi ile genetiği değiştirilmemiş eşdeğeri arasında farklılıklar (artma/azalma) gözlemlense de, bu farklılıklar doğal değişim sınırları içinde kalmıştır (Lorch ve Cotter 2005, Andersson ve ark 2005, MacKenzie ve ark 2007).

### GD NK603

GD NK603 mısır çeşidi ile ilgili olarak yapılan analizler, tarla denemeleri sırasında hasat edilen tohumlarda çeşitli hayvan türlerinde gerek performans ve gerekse laboratuvar çalışmalarını kapsamaktadır. Tarla denemelerinden sağlanan bitkilerin farklı kısımlarında; protein ve diğer besin madde bileşenleri, mineraller (Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, P, K, Na, Zn), vitaminler, amino asitler, yağ asitleri, ADF, NDF, fitik asit, tripsin inhibitörleri, furfural ve ferulik asit, beta-karoten, tokoferoller, p-kumarik asit, ve rafinoz analizleri yapılmıştır. Bu analizlerde, GD NK603 mısır çeşidi ile genetiği değiştirilmemiş eşdeğeri arasında farklılıklar (artma/azalma) gözlemlense de, bu farklılıklar doğal biyolojik değişim sınırları içinde kalmıştır (Grey 1983, Esteve-Garcia ve Llauro 1997, Kidd ve Kerr 1997, Lei ve Van Beek 1997, Smith ve ark 1998, Farran ve ark 2000, Peak ve ark 2000, Harrigan ve ark 2010). William ve ark (2002), yaptıkları bir çalışmada dokuz farklı tarlada iki yıl boyunca elde edilen ürünlerde

besin maddesi yönünden analizler yapılmış ve NK603 mısır çeşidinin eşdeğeri ile benzerlik gösterdiği belirtilmiştir. Ayrıca elde edilen ürünlerde olumsuz bir etkiye de rastlanılmadığı vurgulanmıştır.

**Sonuç olarak; GD DAS1507xNK603** melez mısır çeşidi mısır kurtları, glifosat ve glifosinat herbisitlerine dayanıklılık genlerini içermektedir. Bu çeşit iki GD mısır çeşidinin klasik yolla melezlenmesi sonucu elde edilmiştir. GD DAS1507xNK603 çeşidinin tek (NK603) ve çift gen (DAS1507) içeren ebeveynlerinden kimyasal bileşenler bakımından istatistik olarak önemli bir fark olmadığı sonucuna varılmıştır.

- **Tarımsal Özelliklerin Analizi**

### **GD DAS1507**

EFSA raporları, yürütülen farklı araştırmalar ve üretici firma verilerine göre; 1999-2002 yılları arasında Fransa, İspanya, İtalya, Bulgaristan ve ABD'de yapılan GD DAS1507 mısır çeşidinin, GD olmayan benzeri ile karşılaştırıldığı tarla denemeleri yürütülmüştür. Birkaç mevsim süresince ve farklı yerlerde (1999'da ABD, 2000'de Fransa, İtalya, Bulgaristan, 2002'de İspanya) kapsamlı bir şekilde tarımsal veriler (erken çıkış olarak çimlenme miktarı, gelişim düzeylerinin görsel değerlendirilmesi, polen yayılımı ve püsküllenme için toplam sıcaklık isteği, sap ve kök yatması, bitki boyu, koçan yüksekliği, bitki popülasyonu, yaprak yaşlanmasının tarih ve süresi, hastalık görülme sıklığı, böcek zararlanması, tahıl nem ve yoğunluğu) toplanarak ve 1507 mısırının, GD olmayan eşdeğerine benzerliği onaylanmıştır. Böcek istilası sırasında, polen yayılımı ve püsküllenme için toplam sıcaklık isteği ile ilgili farklılıklar rapor edilmiş olup, bu farklılıklar GD ve GD olmayan hibridlerin genetik geçmişlerindeki farklılıkların göstergesi olarak kabul edilmiştir (EFSA 2005, Center for Environmental Risk Assessment 2011).

Diğer bir çalışmada bitki görünümü, çıkış gücü, kök dağılımı ve koçan özellikleri bakımından da GD DAS1507 ile GD olmayan eşdeğeri arasında istatistik ve biyolojik yönden farklılık bulunmamıştır. Bunların yanında GD mısır hattı DAS1507'den türetilen mısır hibridlerinin tarımsal özellikleri; tohum dormansisi, vejetatif süreç, erken örtü oluşturma, olgunlaşma zamanı, çiçeklenme periyodu, çeşitli mısır zararlıları ve patojenlerine duyarlılıkları ve tohum üretimi modifiye edilmeyen muadilleri ile karşılaştırılmış ve tarımsal özelliklerde tarla çalışma denemelerinde beklenmeyen bir değişiklik görülmemiştir (Zabik ve ark 2003, Biopesticides Registration Action Document 2005, 2010).

Şili'de yapılan denemelerde tarımsal karakterler, bitkisel özellikler ve dane içeriği bakımından GD DAS1507 mısır ile GD olmayan eşdeğeri arasında farklılıklar bulunmuş ise de tarımsal özellikler açısından bu farklılıkların önemli olmadığı rapor edilmiştir (Canadian Food Inspection Agency 2002). Sonuç olarak, Amerika ve Avrupa'nın farklı ülkelerinde yapılan tarla denemelerinde tarımsal özelliklerde ve performansta beklenmeyen bir değişiklik belirtisi görülmemiştir.

Bunların yanında GD DAS1507 ile GD olmayan eşdeğeri arasındaki tarımsal özellikleri değerlendirmek için, 2001 yılında The National Institute for Agro-Environmental Sciences (NIAES) tarafından Japonya'da izole alanlarda testler

yapılmıştır. Morfoloji ve büyüme açısından: çimlenme oranı, çimlenmedeki homojenite, püsküllenme zamanı, çiçeklenme özellikleri, olgunlaşma süresi, kardeş sayısı, koçan, dane ve yaprak özellikleri, hasat zamanı, yaş ağırlığı gibi özellikler değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, çimlenme hızı ve koçan çapı hariç, diğer bütün özelliklerde GD DAS1507 mısır çeşidi ile kontrolü arasında farklılık görülmemiştir. Erken dönem gelişmesi ve dona tolerans, olgun bitkinin yaz koşullarına dayanımı ve dökülen tohumların kışlama yeteneği, polen boyutu ve canlılığı, yaprak dökümü, dormansi ve tohum çimlenme hızı gibi özellikler açısından da GD DAS1507 mısır çeşidi ile kontrolü arasında önemli farklılık görülmemiştir (Japanese Biosafety Clearing House 2002).

### **GD NK603**

GD NK603 mısır çeşidinin tarımsal özelliklerinin karşılaştırmalı analizlerini yapmak için materyaller tarla denemelerinden toplanmış olup; bunlardan ilki 1998'de ABD'de, Iowa, Illinois, Indiana, Ohio'da yapılmıştır. İkincisi ise 1999'da Fransa ve İtalya'da gerçekleştirilmiştir (EFSA 2003). ABD' de 17 tarımsal alanda yapılan GD ve GD olmayan eşdeğer mısır çeşitlerinin karşılaştırılması yapılarak, morfolojik, büyüme, yayılma ve hassasiyet gibi özellikleri incelenmiştir. Sonuç olarak GD ve GD olmayan eşdeğer mısır çeşitleri arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır. GD NK603 mısır çeşidinde morfolojik ve büyüme özellikleri, çimlenme, çiçeklenme, dane ve koçan özellikleri, olgunlaşma süresi, kardeş sayısı, sap uzunluğu, hasat zamanı, toprak üstü bölümün yaş ağırlığı gibi özellikler de değerlendirilmiştir. Bütün parametreler dikkate alındığında GD ve GD olmayan mısır çeşitleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark görülmemiştir (JBCH 2005). Yapılan birçok çalışmada da benzer sonuçlar bulunmuştur (Clark ve Ipharraguerre 2004, CAST 2006, Flachowsky ve ark 2005, 2007). Dane ve yem özellikleri açısından en kapsamlı sayılabilecek olanı, 2002 yılında Ridley ve ark. tarafından yapılan içerik analizleridir. Bu çalışmada incelenen özellikler açısından GD NK603 mısır çeşidi ve eşdeğeri arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır.

### **GD DAS1507xNK603**

Mısır kurtları ve herbisitlere toleransı sağlayan *cry1F* ve *cp4 epsps* ile *pat* genlerini içeren GD DAS1507xNK603 melez mısır çeşidi ile GD olmayan eşdeğeri arasında morfolojik, büyüme, dormansi özellikleri, erken dönemde dona tolerans, polen boyutu ve dölleme kabiliyeti, tohum üretimi gibi özellikler bakımından bir fark olmadığı saptanmıştır (EFSA 2005, Center for Environmental Risk Assessment 2011, Biopesticides Registration Action Document 2010, Zabik ve ark 2003, Canadian Food Inspection Agency 2002, JBCH 2002, 2004, EFSA 2003, Hin 2001). Ayrıca *cry1F* ve *cp4 epsps* ile *pat* genlerini içeren bir üçlü melez olan MON89034xDAS1507xNK603 hattında da benzer sonuçlar elde edilmiş tarımsal, fenotipik ve ekolojik karakterler tarla koşullarında analiz edilmiş ve sap sayısı, tohumluk gücü, %50 polen salınımı ve püsküllenme günleri, koçan yüksekliği bitki yüksekliği, yeşil kalma süresi, düşük koçan, yatma, kök yayılımı, dane nemi, hektolitre ağırlığı, verim, biyotik ve abiyotik stres faktörlerine tepki bakımından GD olmayan eşdeğerleriyle denkliliği kabul edilmiştir (EFSA 2010).

**Sonuç olarak;** GD DAS1507xNK603 mısır çeşidinin yukarıda belirtilen besin içeriği, kimyasal bileşimi ve tarımsal özellikleri açısından, genetik olarak değiştirilmemiş çeşitlerle benzer olduğu sonucuna varılmıştır.

### **Toksisite Değerlendirilmesi**

Toksisite ve allerjenite değerlendirmeleri hem ebeveynlerde hem de melezinde ayrı ayrı yapılmıştır. GD bitkilerin toksisite çalışmaları, bitkiye aktarılan genlerin kodladığı CP4 EPSPS, PAT ve Cry1F proteinlerine yönelik olarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmalar, saflaştırılmış proteinlerin uygulanması ve genetiği değiştirilmiş mısır çeşitlerinin hedef hayvanlara (fare, sıçan, kümes hayvanları, domuz, koyun, keçi, inek ve balık) yedirilmesi ile gerçekleştirilmiştir.

### **GD DAS1507**

DAS1507 mısır çeşidi orijinal olarak toprak organizmalarından aktarılan Bt toksin (Cry1F) ve PAT proteinlerini üretir. DAS1507 mısır çeşidi ile sıçanlar 13 hafta süre ile beslenmişlerdir. Bu çalışmada, incelenen tüm parametreler (histopatolojik, biyokimyasal ve hematolojik) açısından DAS1507 GD mısır çeşidinin değiştirilmemiş mısır çeşidi kadar besin ve toksikolojik yönden güvenli olduğu belirtilmektedir (MacKenzie ve ark 2007).

Zhang ve Shi (2011) yaptıkları bir derleme yayında, DAS1507 gibi GD mısır çeşitlerinde ifade edilen PAT ve Cry proteinleri ile kısa (28 gün) ve uzun (90 gün) süreli yapılan çalışmalarda üreme sistemleri üzerinde ovaryum ve testis dokularının histolojik incelenmesi ile üreme siklusu üzerinde olumsuz bir etkisinin olmadığını belirtmişlerdir.

DAS1507 mısır çeşidinin ifade ettiği Bt toksin, MON 810 tarafından üretilen Cry1Ab'den farklı ve böceklere daha toksiktir. Ayrıca sağlık üzerinde olumsuz etkileri olabileceği değerlendirilen glifosinata karşı da tolerant sağlamaktadır. İnsan sağlığını da ilgilendiren birçok belirsizlik ve risk olduğunu gösteren Testbiotech raporu da EFSA tarafından dikkate alınmamış ve AB Komisyonu tarafından üretimine izin verilmiştir (Christoph 2010). Buna karşılık GD DAS1507 mısır çeşitleri ile yapılan çalışmalardan Domingo ve Bordonaba (2011) tarafından yapılan derleme yayında toksikolojik ve alerjik etkisinin olmadığı bildirilmiştir.

### **GD NK603**

GD Roundup Ready NK603 Avrupa Birliği tarafından 2014 yılına kadar gıda ve yem katkısı üretmek üzere izin verilen EPSPS enzimi değiştirilerek glifosat herbisitine tolerant hale getirilmiş mısır çeşididir. GD NK603 mısır çeşidi danelerinde 10-14 µg/g gibi çok düşük miktarda CP4 EPSPS proteini bulunmaktadır. EPSPS enzimi bütün bitkilerde vardır, dolayısıyla CP4 EPSPS de onun kadar güvenli kabul edilmektedir. Harrison ve ark (1996) saf EPSPS proteinini gavaj yolu ile uyguladıkları farelerde 572 mg/kg gibi yüksek dozlarda bile herhangi bir toksik etki saptamamışlardır. EFSA panelinde yapılan değerlendirme sonuçlarına göre de CP4 EPSPS proteininin güvenli olmadığına ilişkin bir veri bulunmamıştır (EFSA 2010).



Yemlerinde %11 ve %33 oranında GD NK 603 mısır çeşidi içeren rasyon ile beslenen dişi ve erkek sıçanlarda (28 ve 90 gün süreli) incelenen tüm parametreler (organ ağırlıkları, organ/vücut ağırlık oranları, besin tüketimi, serum kimyası (ALP, ALT, BUN, CREA, Albumin, Glukoz ve mineraller) ve hematolojik değerler (WBC, RBC, Hb, Ht vb) bakımından eşdeğeri kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan fark bulunamamıştır. Genel morfolojide herhangi bir fark bulunamamış fakat histopatolojik açıdan sadece %33 oranında GD mısır içeren yemi tüketen gruplarda karaciğerde minor değişiklikler saptanmıştır (Hammond ve ark 2004).

CP4 EPSPS enziminin amino asit dizilimi incelendiğinde memelilerde hiçbir toksik ve alerjen protein ile homoloji göstermediği ve CP4 EPSPS proteininin insan ve hayvan tüketiminde güvenli olduğu bildirilmektedir (Harrison ve ark 1996, Richard ve ark 2005, Benachour ve ark 2007).

İki farklı Cry proteini ifade eden MON 810 ve MON 863 ile CP4 EPSPS proteini ifade eden GD NK 603 mısır çeşitleri ile %11 ve %33 oranda 5 ve 14 hafta süreyle beslenen sıçanların detoksifikasyon organları olan karaciğer ve böbrek ile ilişkili 60 ayrı biyokimyasal parametre serum ve idrarda ölçülmüştür. Karaciğer ve böbrek dokularında GD üç mısır çeşidine ait istatistiksel olarak önemli olmayan farklılıklar saptanmıştır. Diğer yandan kalp, adrenal bezler, dalak ve hematopoetik sistemde bazı farklılıklar belirlenmiştir. Elde edilen veriler hepatorenal toksisiteyi işaret etmektedir ve bu durumun, genetiği değiştirilmiş üç mısır çeşidine özgün yeni pestisitlere (proteinlere) bağlı olabileceği belirtilmiştir. Ayrıca bu olayda, genetik modifikasyonun istem dışı veya dolaylı metabolik sonuçlarının da göz ardı edilmemesi vurgulanmıştır (Vendomois ve ark 2009).

Vendomois ve ark (2009)' nın yukarıda bahsedilen bulguları bir derleme yayında tartışılmıştır. Yazarlar, bu çalışmanın günümüze kadar bilimsel olarak irdelenmediğini vurgulamışlardır. GD diyetlerinin istatistiksel olarak anlamlı etkilerinin veya pestisit kalıntıları içeren GD ürünlerin -hepsinde olmamakla birlikte- daha önce de kimi çalışmalarda gözlemlendiği bildirilmiştir. Her olgu için ayrı yaklaşım ve toksikolojik çalışmaların çok sınırlı olduğu özellikle belirtilmiştir. Söz konusu araştırmada, risk öngörüsünün yalnızca her iki cinsiyetten 40'ar sıçanda 90 günlük diyetle yapılmaya çalışılmasının tartışmalı olduğu vurgulanmıştır. Üstelik bu çalışmadan elde edilen sonuçların istatistiksel anlamlılık sınırında olduğu ve daha uzun süreli bağımsız çalışmalarla yinelenmeleri gerektiği bildirilmiştir (Domingo ve Bordonaba 2011).

*cp4 epsps* geni, 455 amino asitten (47,6 kDa) oluşan tek bir polipeptiti kodlar ve aktarılan bitkinin EPSPS enzimi analogu ile %50 oranında amino asit dizilim benzerliği gösterir. Bakteriyel ve bitkisel EPSPS protein ailesinin herhangi bir alerjik veya toksik etki gösterdiği bilinmemektedir. CP4 EPSPS proteininin potansiyel toksisitesi, veri tabanında yer alan farelerde oral akut toksisitesi bilinen 4677 proteinin amino asit dizilimi ile (hiçbiri birbirine benzemeyen) karşılaştırılarak değerlendirilmiş ve bir benzerlik bulunamamıştır. CP4 EPSPS proteini, bilinen protein toksinleri ile herhangi bir dizilim homolojisi göstermediği 400 mg/kg'a kadar CP4 EPSPS proteini verilen farelerde (50 dişi, 50 erkek) herhangi bir istenmeyen etkiye neden olmadığı saptanmıştır. CP4 EPSPS de tek bir amino asitin (L214P) değişimi proteinin ifadesinin sonucunu değiştirmemiştir (Canadian Food Inspection Agency 2009).

GD NK603 mısır çeşidi ile yapılan tüm hayvan denemeleri sonucunda hayvanların sağlığı açısından olumsuz bir tablonun görülmediği kanısı ağırlık kazanmıştır (Esteve-Garcia ve Llauro 1997, Kidd ve Kerr 1997, Lei ve Van Beek 1997, Smith ve ark. 1998, Farran ve ark. 2000, Peak ve ark 2000, Grey 1983, Willam ve ark 2002, Taylor ve ark 2003, Erikson ve ark 2003, Grant ve ark 2003, Ipharraguerre 2003).

**Sonuç olarak;** GD DAS1507xNK603 melez mısır çeşidinin içerdiği Cry1F ve PAT proteinleri ile CP4 *epsps* geni ve proteinleri ile yapılan çalışmalarda hem GD DAS1507 hem de NK603 mısır çeşitlerinin toksik ve allerjik protein ve amino asit içermediği ancak bu ürünlerdeki herbisit kaynaklı karaciğer ve böbrekte bazı olumsuz değişiklikler olabileceği bildirilmektedir.

## **Alerjenite Değerlendirmesi**

### **GD DAS1507**

Codex Alimentarius Commission mevzuatına göre (2003) yeni proteinlere IgE bağlanması incelenmiş ve genetik olarak değiştirilmiş olan DAS1507 mısır çeşidinin ürettiği yeni protein düzeyinin allerjik etkiye neden olacak kadar IgE bağlantısı gerçekleştiremeyeceği belirtilmiştir (Taylor ve Goodman 2007). GD DAS1507 genetiği değiştirilmiş mısır çeşidinin sentezlediği Cry1F proteini ısıya dayanıksız ve hızlı hidrolize olmaktadır. Ayrıca bu protein glikozillenmediği için allerji kaynağı olmadığı gibi, insan serumu ile yapılan allerji testinde de allerjen olmadığı belirlenmiştir (Cockburn 2002, Ladics ve ark 2006).

### **GD NK603**

GD mısır çeşidi NK603'e aktarılan CP4 EPSPS proteinini kodlayan gen, allerjik tepkilere neden olabilecek herhangi bir organizmadan elde edilmemiştir. Bu proteinin allerjik potansiyeli, bilinen allerjenleri içeren veri tabanları ile amino asit dizilimi karşılaştırılarak ileri düzeyde araştırılmıştır. Ayrıca sindirim sisteminde dayanıklılığı da, mide sıvısı benzeşim (simülasyon) ortamında incelenmiştir. Sekiz amino asit uzunluğunda peptit parçası kullanılarak 567 proteinden oluşan bir veri tabanı ile kontrol edildiğinde, CP4 EPSPS ile bilinen allerjenler arasında amino asit dizilim benzerliği olmadığı anlaşılmıştır. Western immunoblot analizlerinde öngörüldüğü üzere, CP4 EPSPS protein, pepsin içeren mide sıvısı veya tripsin içeren bağırsak sıvısı benzeşim ortamında hızla parçalanmaktadır (T50 < 15 sn.). Benzer sonuçlar, CP4 EPSPS L214P ile de elde edilmiştir (Canadian Food Inspection Agency 2009).

**Sonuç olarak;** GD DAS1507XNK603 melez mısır çeşidinde aktarılan genlerde ve üretilen yeni proteinlerde ebeveynlere göre farklılık olmadığından, toksikolojik ve allerjenite yönünden genetik olarak değiştirilmemiş eşdeğeriyle benzer olduğu kanısına varılmıştır.

## Çevresel Risk Değerlendirmesi

### Genetik Değişiklikten Kaynaklanabilecek Yayılma Potansiyeli

Gen kaçıışının potansiyel kaynakları tohum ve polen olarak bilinmektedir. Mısır tohumlarının hayvanlar aracılığıyla taşınması, tohum yapısı bakımından elverişsiz olup, tohumların doğaya kaçıışının ancak yem işleme ve nakliye süreçleri sırasında gerçekleşebileceği düşünülmektedir (Nishizawa ve ark 2009).

GD DAS1507xNK603 melez mısır çeşidi GD DAS1507 ve NK603 mısır çeşitlerinin çaprazlamasıyla geliştirilmiş olup F1 melez çeşitte farklı bir genetik değişiklik bulunmamaktadır. DAS1507xNK603 F1 melezi DAS1507 ve NK603'ün özelliklerini taşımaktadır (EC 2003). Tarla denemelerinde, GD DAS1507 ve NK 603 mısır çeşitlerinin, kaynağı olan genetik olarak değiştirilmemiş mısır çeşidi ile hayatta kalma, üreme ve yayılma özellikleri bakımından, Lepidoptera takımındaki böcek türlerine dayanıklılık, glifosinat ve glifosat herbisiti uygulaması dışında, herhangi bir fark göstermediği bulunmuştur (Canadian Food Inspection Agency 2002, EFSA 2003, 2005, CERA 2009,). Ayrıca, genetik olarak değiştirilmiş DAS1507 mısır çeşidinde, istilacı özelliğe neden olacak herhangi bir genetik modifikasyona dair kanıt bulunamamıştır. GD DAS1507xNK603 mısır çeşidi morfolojik ve büyüme özellikleri bakımından kendi anaç hatlarından ve genetik olarak değiştirilmemiş mısıra göre önemli bir fark tespit edilmemiştir (CERA 2009).

**Sonuç olarak;** DAS1507xNK603 mısır çeşidinin, çevreye yayılma potansiyeli yönünden genetik olarak değiştirilmemiş eşdeğerleriyle benzer olduğu sonucuna varılmıştır.

#### • Bitkiden bitkiye gen kaçıışı

Mısır yabancı döllen bir bitki olup, pollenler rüzgârla çevreye taşınabilmektedir (Treu ve Emberlin 2000). Ancak yem amaçlı olarak DAS1507xNK603 çeşidinin ülkemize girişi nedeniyle bitkiden bitkiye gen kaçıışının kaza ile çevreye yayılması ile mümkün olabilir (Nishizawa ve ark 2009).

Kültürü yapılan mısır çeşitlerinin ülkemizde yaygın olarak üretilmesi nedeniyle DAS1507xNK603 mısır çeşidinden yabancı türlere ve kültür çeşitlerine gen kaçıışı olasılığının bulunacağını göstermektedir (Lu ve Yang 2009, Healty Canada Office of Food Biotechnology 2001, Canadian Food Inspection Agency 2002, FSANZ, 2002).

Bununla beraber mısır tohumlarının ender olarak dormansi göstermesi ve sadece uygun koşullarda izleyen yılda çimlenmesi, tohumların yenmesi, çürümesi, kış zararı ve tarım uygulamaları nedeniyle fideler agro-ekosistemde canlılığını sürdürememektedir. Bu nedenle, GD DAS1507xNK603 mısır çeşidinin, glifosinat ve glifosat kullanılan araziler dışında, diğer çeşitlere kıyasla daha uyumlu olabileceği düşünülmemektedir (EC 2003).

#### Bitkiden bakteriye gen kaçıışı

Genetik olarak değiştirilmiş DAS1507xNK603 mısır çeşidinden üretilen besin ve yemlerde bulunan trans-genlerin, insan ve hayvanların sindirim sistemlerinde ve

doğada bulunan mikroorganizmalarla karşılaşma riski bulunmaktadır. Bitki DNA'sı memelilerin sindirim sisteminde büyük oranda ve hızla parçalanmasına karşın, kalın bağırsakta DNA parçalarına rastlanabilmektedir (Eede ve ark 2004). Öte yandan bu gen parçalarının prokaryot genomuyla birleşme olasılığının doğada rastlanılandan daha fazla olmadığı belirtilmektedir (Nielsen 1998, Keese 2008, EFSA 2005).

Ayrıca, GD DAS1507xNK603 mısır çeşidinde antibiyotiğe direnç geninin bulunmaması ve aktarılan *cry1F*, *cp4 epsps* ile *pat* genlerinin ökaryotik hücrelerden prokaryotlara geçişi mümkün gözükmemektedir (Eede ve ark 2004, EFSA 2005, FSANZ, 2003).

**Sonuç olarak;** GD DAS1507xNK603 mısır çeşidi ülkemizde **yalnızca gıda amaçlı** kullanılacağı ve üretimi yapılmayacağından, kazayla oluşabilecek yayılmalar sonucu gelişen bitkilerden, kültürü yapılan mısır çeşitlerine gen kaçışının son derece düşük olacağı düşünülmektedir. Ayrıca sindirim sisteminde ve doğada bulunan prokaryotlara da gen geçişinin yok denecek kadar az olduğu sonucuna varılmıştır.

### **Gıda İşleme Teknolojileri**

Mısır tohumu gıda sektörü için önemli bir hammaddedir ve çok sayıda gıda maddesinin bileşimine girmektedir. Mısırdan kırım sonrası ana ürünler olarak, mısır kepeği, mısır proteini, mısır özü ve nişasta elde edilmektedir. Kepek ve protein hayvan yemi olarak kullanılırken, mısır özü yağ eldesi amacıyla değerlendirilmektedir. Nişasta ise doğrudan nişasta veya modifiye nişasta olarak kullanılabilen, ya da çeşitli işlemlerden geçirilerek mısır şurupları, dekstrinler, şeker alkoller veya etanol gibi çok farklı ürünlere işlenebilmektedir.

Mısır ıslak veya kuru olmak üzere iki şekilde kırılır ve bu işlemlerde tamamen fiziksel yöntemler kullanılır. Önce mısır özü, daha sonra da nişasta ve protein ayrılır. Elde edilen nişasta, nişastanın jelleşme sıcaklığının altında, 50-60 °C'de kurutulur. Bu aşamada nişastada %0.4'e kadar protein kaldığı bilinmektedir.

Şurup elde etmek amacıyla nişastaya enzim (amilaz) uygulanır. Bu işlemde sonra, ürün 106-110°C'de 2-3 saat pişirilir. Şurup içerisinde bulunabilecek safsızlıklar farklı filtre veya iyon değiştirici reçinelerden geçirilerek alınır. Üründe bulunan su ise, evaporatörlerde yaklaşık 80°C sıcaklıkta kademeli olarak uzaklaştırılır.

GD mısır ve ürünlerini içeren gıdalar işlem görüp görmediklerine göre, ya doğrudan aktarılan gen tarafından sentezlenen Cry toksinlerini, CP4 EPSPS ve PAT enzimlerini veya uygulanan işlemin etkinliğine göre, söz konusu DNA parçalarını farklı boyutlarda içerebilmektedir. Gıda işlemede kullanılan öğütme, yüksek basınç ve sıcaklık gibi fiziksel işlemler ile pH gibi kimyasal etmenlerin DNA'nın yapısı ve bütünlüğünü negatif yönde etkilediği bilinmektedir. Isı uygulaması ile geri dönüşümsüz olarak gerçekleşen denatürasyon sonucunda PCR ile düşük miktarda saptanabilse de, beslenmede DNA moleküllerinin bakteriye geçişi söz konusu değildir. Farklı gıdalarda PCR ile yapılan DNA çalışmalarına göre, un gibi öğütülmüş bazı tahıllarda yüksek molekül ağırlıklı DNA parçaları elde edilebilmiştir. Buna göre öğütme ve parçalamanın DNA'nın bütünlüğüne önemli bir etkisinin olmadığı ifade edilmiştir (Rizzi ve ark 2012).

DNA yüksek sıcaklıklarda fiziksel parçalanmaya uğramaktadır. Sıcaklık 100°C'nin üzerine çıktığında, DNA'da önemli düzeyde parçalanma gözlenmiştir (Lindahl 1993, Herman 1997). Mısır tanesi 94°C'den daha yüksek sıcaklıklarda en az 5 dakika ısıtıldığında da DNA parçalarına ayrılmıştır (Chiter ve ark. 2000). Gawienowski ve ark (1999) PCR ile yaptıkları araştırmada, mısırın ıslak kırımı sonucunda nişastada, ruşeyimde, glutende ve kepekte DNA belirlemişlerdir. 135°C'de 2 saatlik kurutma sonunda ise, DNA'nın parçalandığı ve belirlenemeyecek düzeye düştüğü ifade edilmiştir.

Isı ile birlikte düşük pH da DNA'nın parçalara ayrılmasına neden olmaktadır. Bir diğer çalışmada ise, polenta (mısır unu ile yapılan bir çeşit İtalyan yiyeceği) hazırlanmasında uygulanan 65 dakikalık kaynatmanın "amplifiable DNA" nın %40'ını azalttığı vurgulanmıştır (Rizzi ve ark 2003). Buna karşın mısırdan elde edilen polenta ve diğer fırıncılık ürünlerinde büyük DNA parçalarının elde edilebildiği de rapor edilmiştir (Hupfer ve ark. 1998, Lipp ve ark. 2001, Rizzi ve ark 2001). Benzer bulgular soyadan elde edilen soya sütü ve tofuda da bulunmuştur (Bauer ve ark 2003). Soya protein konsantresi (Meyer ve ark. 1996), domates ürünleri (Hemmer 2002) ile mısır ve patates cipsi (Rizzi ve ark 2003, Bauer ve ark 2004) gibi ileri düzeyde işlenmiş gıdalarda 200-400 baz çiftlik DNA dizimleri elde edilmiştir. Fakat şeker ve bitkisel yağlar gibi rafine ürünlerde DNA belirlenememiştir (Klein ve ark 1998, Pauli ve ark 2000, Gryson 2002). Soğuk preslenmiş bitkisel yağlar ile mısır nişastasında DNA kalıntılara rastlanmıştır (Hellebrand ve ark 1998, Vaitilingom ve ark. 1999, Smith ve Maxwell 2007), buna karşın maltodekstrin ve glukoz şurubu gibi nişasta türevlerinde genel olarak DNA belirlenememektedir (Meyer 1999). Mısır yağı, protein tozu ve nişastasını da içeren ileri derecede işlenmiş 11 genetik modifiye ürün üzerinde yapılan bir diğer araştırmada da, %0.005 hasasiyetle rafine yağlar dışındaki tüm ürünlerde transgenik DNA parçaları bulunmuştur (Jinxia ve ark 2011).

Yağ rafinasyonunun DNA üzerine etkilerini belirleyebilmek amacıyla yapılan çalışmalarda, soya, kolza ve mısır yağları kullanılmıştır. Soğuk preslenmiş kolza yağlarında 350 baz çiftine kadar bitkiye özgü DNA parçaları tespit edilmiştir (Hellebrand ve ark 1998, Pauli ve ark 1998) ise ham soya yağını 14000 g'da 15 dakika santrifüj ettiğinde DNA seviyesinin  $10^4$  faktöründe azaldığını belirtmişlerdir. Pauli ve ark (2000) rafine mısır yağında çeşide özel zein geni belirleyememişlerdir.

Ham yağlarda yüksek konsantrasyonda ve değişik uzunlukta DNA parçaları bulunmasına rağmen; rafinasyonda ilk aşama olan yapışkan maddelerin alınması işleminin DNA'yı uzaklaştırmada en önemli uygulama olduğu, çünkü DNA'nın su fazında yoğunlaşarak işlem sonunda lesitin-su fraksiyonunda kaldığı ifade edilmiştir. Fiziksel rafinasyonda ise asit-degumming işlemi uygulanmış ve bu işlemden sonra DNA'nın belirlenebilecek düzeyin altında kaldığı saptanmıştır. Bu çalışmalarda, yapışkan maddelerin alınması işleminden sonra yağda kalıntı DNA bulunamamıştır (Padgette ve ark 1996, Pauli ve ark 1998, Gryson ve ark 2002, Gryson ve ark 2004). Buna karşın, analiz için kullanılan örnek miktarı 5 g yerine 200-300 g'a çıkarıldığında DNA pelletleri elde edilebilmiş ve kalıntı fosfor ile kalıntı DNA arasında ilişki bulunmuştur. Bu bulgular, yapışkan maddelerin alınması işleminin kalıntı DNA'yı tümüyle uzaklaştırmadığını; test edilecek örnek miktarı artırılarak pozitif PCR sonuçları alınabileceğini göstermektedir. Nitekim, bu yöntemler kullanılarak, rafine yağlarda, aktarılan genleri de içeren, çok kısa (yaklaşık 100 baz çifti) DNA parçaları belirlenebilmiştir (Bogani ve ark 2009, Costa ve ark 2010a, 2010b).

## GENEL SONUÇ ve ÖNERİLER

Bilimsel Komite, **GD DAS1507xNK603** mısır çeşidinin '**gıda olarak**' kullanım amacıyla ithal edilmesinin risklerini değerlendirmiştir. GD DAS1507xNK603 mısır çeşidine biyoteknolojik yöntemlerle aktarılan genlerin yapısı, DNA dizilimi, promotör ve terminatör bölgeleri, ekstra DNA dizileri ve gen aktarım yöntemi ayrıntılı olarak incelenmiştir. Bu çeşit ile ilgili yapılan bilimsel araştırmaların sonuçları (alerjik ve toksik etki analizleri, genetik modifikasyonun stabilitesi, morfolojik ve agronomik özellikler, hedef dışı organizmalara etkisi vb.) ve risk değerlendirilmesi yapan çeşitli kuruluşların görüşleri (EFSA, WHO, FAO, FDA, OECD) ile başvuru dosyasında bulunması gereken dokümanlar göz önünde bulundurulmuştur. Yine bu GD çeşitle yapılan uzun süreli hayvan deneylerinin sonuçları da incelenerek gıda olarak kullanımı sonucu ortaya çıkabilecek riskler değerlendirilmiştir.

Bilimsel komite, Lepidoptera takımındaki mısır kurtlarına dayanıklılığı sağlayan *B. thuringiensis* subsp. *aizawai* kökenli **cry1F** ve **glifosinat amonyum** herbisitine toleransı sağlayan *S. viridochromogenes* orijinli **pat** (phosphinothricin-N-acetyltransferase) ile *Agrobacterium tumefaciens*'den izole edilen ve **glifosat** herbisitine toleransı sağlayan **cp4 epsps** genleri ile proteinlerini içeren **GD DAS1507xNK603** mısır çeşidinin, geleneksel mısır çeşitleri kadar güvenli olduğu, alerjenite bakımından bir değişikliğe uğramadığı ve besin içeriği ile tarımsal özellikleri açısından da bir fark bulunmadığı saptanmıştır. Melez mısır çeşidinin mısır kurtları ve glifosat ve glifosinat herbisitlerine dayanıklılık genlerini ayrı ayrı içeren iki GD mısır çeşidinin klasik yolla melezlenmesi sonucu elde edilen GD DAS1507xNK603 mısır çeşidinin tek (NK603) ve çift gen (DAS1507) içeren ebeveynlerinden morfolojik, fenolojik ve toksikolojik açıdan da farklı olduğuna dair bir bulguya rastlanmamıştır (Pilacinski ve ark. 2011). **GD DAS1507xNK603** mısır çeşidinin kazayla çevreye yayılması durumunda, geleneksel çeşitlerden farklı bir çevresel etkinin oluşması olasılığının da çok düşük olduğu sonucuna varılmıştır. Ancak partikül bombardımanı nedeniyle GD mısır ile izogenik kontrollüne ait ürünlerinin proteomik profilleri karşılaştırıldığında protein anlatım seviyelerinde farklılık vardır. Bu protein profillerindeki değişimler göz önüne alındığında gıda güvenliği için bu proteinlerin de araştırılması gerekmektedir. Erişilebilen bu bilgiler ışığında, Bilimsel Risk Değerlendirme Komitesi, **GD DAS1507xNK603** mısır ve ürünlerinin '**gıda ve bileşenleri olarak**' kullanılmasını değerlendirmiştir.

Türkiye'nin de taraf olduğu ve uluslararası bağlayıcılığı olan Cartagena Biyogüvenlik Protokolü'ne göre "**İhtiyatlılık ilkesi**" Antlaşmanın en yaşamsal maddesi olup "**güvenlik konusunda bir bilimsel bilgi ya da uzlaşma eksikliği olduğunda, Ülkelerin GD ürünlerin ithalatını ve kullanımını yasaklama veya sınırlandırma hakkı olduğunu**" hüküm altına alır.

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

aktarılan genlerden üretilen proteinler ile **GD DAS1507xNK603** mısırın gıda olarak tüketilmesi sonucunda insanlar üzerinde risk oluşturmayacağına ait kesin veriler elde edilememiştir. Toksikolojik çalışmalarda kimi sınırlı bilgiler elde edilse de, insan sağlığı açısından olası olumsuz etkilerinin ortaya konmasını sağlayacak kesin bilgiler ve sonuçlar için daha çok bilimsel çalışma yapılmasının gerekli olduğu bu nedenle; **GD DAS1507xNK603** mısır ve ürünlerinin gıda amaçlı kullanılması durumunda **yalnızca** tam rafine yağ, seker şurupları, dekstrinler ve nişasta olarak kullanılmasının risk oluşturmayacağı görüşüne varmıştır.

## Risk Yönetimi

Özellikle bitki dışı organizmalardan klonlanarak GD bitkilerinin geliştirilmesinde kullanılan gen/genlerin, gerek GD bitkilerinin gerekse bunları tüketen hayvanların genomlarındaki olası olumsuz etkilerinin kısa sürede tam olarak ortaya çıkmayacağı göz önünde bulundurulmalıdır. Bu görüşü doğrulayan USDA, FDA, EPA, CDC gibi ABD devlet kurumları, biyoteknoloji şirketlerini kapsamlı saha ve güvenlik araştırmalarına yönlendiren mevzuat düzenlemeleri yapmaktadırlar. Bu çerçevede oluşturulan kararlara göre; 1) Tarımsal ürünleri geliştirmek için biyoteknolojik yöntemlerin kullanımı gerekli olabilmektedir, 2) Biyoteknolojik yöntemlerle üretilen gıdalar kesin bilimsel temellere dayanmak zorundadır, 3) Et, süt ve yumurtanın güvenliği, bilimsel kanıta dayalı risk öngörüsü süreçleri ile uygun biçimde kamu kurumları ve araştırmacıları tarafından sağlanmalıdır (Heinemenn 2009).

Risk yönetiminin planlanması ve bu planının uygulanması Bilimsel Risk Değerlendirme Komitesi'nin sorumluluğu dışındadır. Ancak Komite, İthalatçı firma tarafından sunulan risk yönetim planını, bilimsel içerik yönünden değerlendirir. **GD DAS1507xNK603** mısır çeşidinin taşınma ve işlenmesi sırasında kazayla çevreye yayılması sonucu olası çevresel riskler ortaya çıkabilir. Bu durumda 5977 sayılı Biyogüvenlik Kanunu ve ilgili yönetmelikler uyarınca gerekli önlemler alınmalıdır. İthalatçı firma tarafından sunulması gereken risk yönetim planı;

1. **GD DAS1507xNK603** mısır çeşidinin çevre, hayvan ve insan sağlığı üzerinde olumsuz etkileri dikkate alınarak, merkezi sistem yolu ile ithalatçı firma tarafından ürünü işleyenler ve kullanıcılar bilgilendirilmelidir.
2. Ürünün dağıtımını yapan ve kullanan kişiler tarafından kaydedilen bilgilerin paylaşılması için ulusal düzeyde bir eşgüdüm ve bilgi sistem ağı (**Europa Bio benzeri**) kurulmalıdır.
3. Elde gözetim sistemi ağı varsa, bu amaçla kullanılabilir. GD ürünlerin kaza ile ve/veya sabotajla büyük ölçekte çevreye yayılması durumlarında alınacak hızlı ve kapsamlı önlemlerin **Ulusal Afet Planlarıyla** ilişkilendirilerek değerlendirilmesi ve planlanması uygun olacaktır.
4. İthalatçı firma, yıllık olarak genel bir gözetim raporunu ve ithal izin süresinin sonunda genel bir değerlendirme raporunu Bakanlığa sunacaktır. Doğrulan bir olumsuz etki durumunda ithalatçı firma, ilgili Bakanlık birimlerini bilgilendirmek zorundadır.

## KAYNAKLAR

Andersson HC, Bartsch D, Buhk H-J, Davies H, De Loose M, Gasson M, Hendriksen NB, Heritage J, Kärenlampi S, Kryspin-Sørensen I, Kuiper H, Nuti M, O'Gara F, Puigdomenech P, Sakellaris G, Schiemann J, Seinen W, Sessitsch A, Sweet J, van Elsas JD, Wal J-M, 2005. Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on an application (reference EFSA-GMO-NL-2004-02) for the placing on the market of insect-tolerant genetically modified maize 1507, for food use, under Regulation (EC) No 1829/2003 from Pioneer Hi-Bred International/Mycogen Seeds (Question no EFSA-Q-2004-087). The EFSA Journal, 182: 1-22.

Bauer-Panskus A. Then C. 2010. Testbiotech opinion concerning the application for market approval of genetically modified maize 1507. A Testbiotech-Report, 1-25.

Bauer T, Hammes WP, Haase NU, Hertel C, 2004. Effect of food components and processing parameters on DNA degradation in food. Environ. Biosafety Res., 3:215–223.

Bauer T, Weller P, Hammes WP, Hertel C, 2003. The effect of processing parameters on DNA degradation in food. Eur. Food Technol., 217:338–343.

Benachour N, Sipahutar H, Moslemi S, Gasnier C, Travert C, Séralini GE, 2007. Time and dose dependent effects of Roundup on human embryonic and placental cells and aromatase inhibition. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 53:126-133.

Biopesticides Registration Action Document, 2005. U.S. Environmental Protection Agency Office of Pesticide Programs Biopesticides and Pollution Prevention Division. Office of Pesticide Programs BIOPESTICIDE REGISTRATION ACTION DOCUMENT *Bacillus thuringiensis* Cry1F Corn August 2004 (Updated August 2005)

Biopesticides Registration Action Document. 2010. Cry1Ab and Cry1F Bt Plant-Incorporated Protectants. U.S. Environmental Protection Agency Office of Pesticide Programs Biopesticides and Pollution Prevention Division. September 2010.

Brookes G, Barfoot P, 2005. GM Crops: The Global Socioeconomic and Environmental Impact-The First Nine Years. Dorchester: PG Econ.

Canadian Food Inspection Agency, 2002. Determination of the Safety of Dow AgroSciences Canada Inc. and Pioneer Hi-Bred International's Insect Resistant and Glufosinate - Ammonium Tolerant Corn (*Zea mays* L.) Line 1507. Decision Document DD2002-41. <http://www.inspection.gc.ca/english/plaveg/bio/dd/dd0241e.shtml>

Canadian Food Inspection Agency, 2009. Plant Biosafety Office [PDF]. Decision Document DD2002-35 Determination of the Safety of Monsanto Canada Inc.'s Roundup Ready™ Corn (*Zea mays* L.).

CAST, 2006. Safety of meat, milk, and eggs from animals fed crops derived from modern biotechnology. Council for Agricultural Science and Technology (Issue paper 34).

Center for Environmental Risk Assessment, 2011. A Review of the Environmental Safety of the PAT Protein. ILSI Research Foundation. 1156 Fifteenth Street N.W., Washington D.C. 20005-1743 USA.

CERA, 2009. Outline of the Biological Diversity Risk Assessment Report: Type 1 Use for DAS-01507-1 x MON-00603-6 insect resistant and herbicide tolerant maize. Japanese Biosafety Clearing House, (JBCH) Ministry of Environment, Tokyo, Japan.



[http://cera-gmc.org/index.php?action=gm\\_crop\\_database&mode=ShowProd&data=TC1507xNK603](http://cera-gmc.org/index.php?action=gm_crop_database&mode=ShowProd&data=TC1507xNK603)

Chambers JA, Jelen A, Gilbert MP, Jany CS, Johnson TB, Gawron-Burke C, 1991. Isolation and characterization of a novel insecticidal crystal protein gene from *Bacillus thuringiensis* sbsp. *aizawai*. *J. Bacteriol*, 173(13): 3966-3976.

Chiter A, Forbes JM, Blair GE 2000. DNA stability in plant tissues: implications for the possible transfer of genes from genetically modified food. *Febs Lett* 481(2):164–168

Christoph T, 2010. Approval of Bt maize 1507 should be withheld Testbiotech e.V. Institute for Independent Impact Assessment in Biotechnology Frohschammerstr. 14, 80807 München.

Clark JH, Ipharraguerre IR, 2004. Biotechnology Crops as Feed for Livestock. In: Balgat MK, Ridley WP., Felsot AS, Seiber JN (Eds.), *Agricultural Biotechnology Challenges and Prospects*. American Chemical Society, Washington, DC, pp. 177–198 (Chapter 12).

Cockburn A 2002. Assuring the safety of genetically modified (GM) foods: The importance of an holistic, integrative approach. *Journal of Biotechnology*, 98, 79-106.

Codex Alimentarius Commission, 2003. Alinorm 03/34: Joint FAO/WHO Food Standart Programme, Codex Alimentarius Commission, Twenty-fifth Session, Rome, Italy, 30 June-5July, 2003. Appendix III, Guideline for the conduct of food safety assessment of foods derived from recombinant\_DNA plants, and Appendix IV, Annex on te assessment of possible allergenicity, 47-60.

Domingo JL, Bordonaba JG, 2011. Aliterature review on the safety assesment of genetically modified plants. *Environ. Intern*, 37: 734- 742.

EC, 2003. Summary of the application for the authorisation of genetically modified 1507xnk603 maize and derived food and Feed in accordance with regulation.

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

EFSA, 2003. Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on arequest from the Commission related to the safety of foods and foodingredients derived from herbicide-tolerant genetically modified maize NK603, for which a request for placing on the market was submitted underArticle 4 of the Novel Food Regulation (EC) No 258/97 by Monsanto. *The EFSA Journal*, 9: 1-14.

EFSA, 2005. Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on an application for the placing on themarket of insect-tolerant genetically modified maize 1507, for food use, under Regulation (EC) No 1829/2003 from Pioneer Hi-Bred International/Mycogen Seeds. *The EFSA Journal*, 182, 1-22

EFSA, 2006. Opinion of the European Food Safety Authority in accordance with Articles 6 and 18 of Regulation (EC) No 1829/2003 on application EFSA-GMO-UK-2004-05 Application for the placing on the market of insect-protected, glufosinate and glyphosate-tolerant genetically modified maize 1507 x NK603 for food and feed uses from Pioneer Hi-Bred and Mycogen Seeds (Question No EFSA-Q-2004-139).

EFSA 2009 Scientific Opinion of the Panel on Genetically Modified Organisms on Application (EFSA-GMO-RX-1507) for renewal of authorisation for the continued marketing of existing products produced from maize 1507 for feed use, under Regulation (EC) No 1829/2003 from Pioneer Hi-Bred International, Inc./Mycogen Seeds. The EFSA Journal 1138, 1-11.

EFSA Panel Report 2010. EFSA journal 2010, 8(3), 1564.

Erickson GE, Robins ND, Simon JJ, Berger LL, Klopfenstein TJ, Stanisiewski EP, Hartnell GF, 2003. Effect of feeding glyphosate-tolerant (Roundup –Ready events GA21 or nk603) corn compared with reference hybrids on feedlot steer performance and carcass characteristics. J. Anim. Sci., 81, 2600-2608.

Esteve-Garcia E, Llauro L, 1997. Performance, breast meat yield, and abdominal fat deposition of male broiler chickens fed diets supplemented with DL-methionine or DL-methionine hydroxy analogue free acid. Br. Poult. Sci., 38, 397-404.

Farran MT, Khalil RF, Uwayjan MG, Ashkarian VM, 2000. Performance and carcass quality of commercial broiler strains. J. Appl. Poult. Res., 9, 252-257.

Flachowsky, G., Chesson, A., Aulrich, K., 2005. Animal Nutrition with feed from genetically modified plants. Arch. Anim. Nutr. 59, 1–40.

Flachowsky G, Aulrich K, Böhme H, Halle I, 2007. Studies on feeds from genetically modified plants (GMP) – Contributions to nutritional and safety assessment. Animal Feed Science and Technology, 133(1-2): 2-30.

FSANZ, 2002. Final risk assessment report: glyphosate-tolerant corn line NK603 Food Standards Australia New Zealand.

FSANZ, 2003. Insect protected and glufosinate ammonium-tolerant corn line 1507. Food Standards Australia New Zealand  
<http://www.inspection.gc.ca/english/plaveg/bio/dd/dd0241e.shtml>

Grant RJ, Fanning KC, Kleinschmit D, Stanisiewski EP, Hartnell GF, 2003. Influence of glyphosate-tolerant (event nk603) and corn rootworm protected (event MON863) corn silage and grain on feed consumption and milk production in Holstein cattle. J. Dairy Sci. 86, 1707-1715.

Grey TC, Robinson D, Jones JM, Stock SW, Thomas NL, 1983. Effect of age and sex on the composition of muscle and skin from a commercial broiler strain. Brit. Poult. Sci. 24: 219-231.

Harrigan G, Lundry D, Drury S, Berman K, Riordan S, Nemeth M, Ridley W, Glenn K 2010. Natural Variation in Crop Composition and the Impact of Transgenesis. Nat Biotech. 28: 402-404

Hammond B, Dudek R, Lemen J, Nemeth M, 2004. Results of a 13 week safety assurance study with rats fed grain from glyphosate tolerant corn. Food and Chemical Toxicology 42: 1003–1014.

Harrison LA, Bailey MR, Naylor MW, Ream JE, Hammond BG, Nida DL, Burnette BL, Nickson TE, Mitsky TA, Taylor ML, Fuchs RL, Padgett SR, 1996. The expressed protein in glyphosate-tolerant soybean, 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase from *Agrobacterium* sp. Strain CP4, is rapidly digested in vitro and is not toxic to acutely gavaged mice. J. Nutr., 126: 728-740.

Healty Canada, Office of Food Biotechnology 2001, Novel food Information-Food Biotechnology, Raundup Ready corn line 603

Heinemenn JA, 2009. Report on animal exposed to GM ingredients in animal feed. Prepared for the Commerce Comission of New Zealand.

Hellebrand M, Nagy M, Morsel JT 1998. Determination of DNA traces in rapeseed oil. *Z Lebensm Unters Forsch* 206(4): 237–242

Hemmer W, 2002. Foods derived from genetically modified organisms and detection methods. BATS report 2/97, Agency for Biosafety Research and Assessment of Technology Impacts of the Swiss Priority Programme Biotechnology of the Swiss National Science Foundation, Basel, Switzerland.

Hin CJA, 2001. Rapport Landbouwkundige risico's van uitkruising van GGO-gewassen Centrum voor Landbouw en Milieu (CLM).

Hupfer C, Hotzel H, Sachse K, Engel K-H, 1998. Detection of the Genetic modification in heat-treated products of Bt maize by polymerase chain reaction. *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A.*, 206:203–207.

Ipharraguerre IR, Younker RS, Clark JH, Stanisiewski EP, Hartnell GF, 2003. Performance of lactating dairy cows fed corn as whole plant silage and grain produced from a glyphosate-tolerant hybrid (event NK603). *J. Dairy Sci.*, 86, 1734-1741.

James C, 2011. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops ([www.isaaa.org](http://www.isaaa.org)).

Japanese Biosafety Clearing House (JBCH), 2002. Outline of the biological diversity risk assessment report: Type 1 use approval for cotton DAS-01507-1. Japan Biosafety Clearing House (BCH). Tokyo, Japan.

Japanese Biosafety Clearing House (JBCH), 2004. Outline of the biological diversity risk assessment report: Type 1 use approval for maize MON810 and NK 603. Japan Biosafety Clearing House (BCH). Tokyo, Japan.

Jinxia A. Qingzhang, L. Xuejun G. Yanbo Y. Lu L. Minghui Z (2011) A multiplex nested PCR assay for the simultaneous detection of genetically modified soybean, Maize and rice in highly processed products, *Food Control*, 22: 1617-1623.

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

Kidd MT, Kerr BJ, 1997. Threonine responses in commercial broilers at 30 to 42 days. *J. Appl. Poult. Res.*, 6, 362-367.

Klein J, Altenbuchner J, Mattes R, 1998. Nucleic acid and protein elimination during the sugar manufacturing process of conventional and transgenic sugar beets. *J. Biotechnol.*, 60:145–153.

Ladics SG, Bardina L, Cressman, RF Mattsson JL, Sampson HA, 2006. Lack of cross-reactivity between the *Bacillus thuringiensis* derived protein Cry1F in maize grain and dust mite Der p7 protein with human sera positive for Der p7-IgE. *Regul Toxicol. Pharmacol*, 44 (2):136-143.

Lei S, Van Beek G, 1997. Influence of activity and dietary energy on broiler performance, carcass yield and sensory quality. *Br. Poult. Sci.*, 38, 183-189.

Lipp M, Bluth A, Eyquem F, Kruse L, Schimmel H, Van den Eede G, Anklam E, 2001. Validation of a method based on polymerase chain reaction for the detection of genetically modified organisms in various processed food stuffs. *Eur. Food Res. Technol.*, 212: 497–504.

Lorch A, Cotter J, 2005. EFSA fails again: insect resistant GM Bt maize 1507 (C/ES/01/01) should not be grown in Europe. Greenpeace Research Laboratories Technical Note 13/2005

Lu B-R, Yang C, 2009. Gene flow from genetically modified rice to its wild relatives: Assessing potential ecological consequences. *Biotechnology Advances*, 27:1083-1091.

MacKenzie SA, Lamb I, Schmidt J, Deege L, Morrissey MJ, Harper M, Layton RJ, Prochaska LM, Sanders C, Locke M, Mattsson JL, Fuentes A, Delaney B, 2007. Thirteen week feeding study with transgenic maize grain containing event DAS- Oslash 15 Oslash 7-1 in Sprague-Dawley rats. *Food and Chem. Toxicol.*, 45: 512-520.

Meyer R, Chardonens F, Hubner P, Luthy J, 1996. Polymerase chain reaction (PCR) in the quality and safety assurance of food: Detection of soya in processed meat products. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, A203: 339–344.

Meyer R, 1999. Development and application of DNA analytical methods for the detection of GMOs in food. *Food Control*, 10:391-399.

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

Nishizawa T, Nakajima N, Aono M, Tamaoki M, Kuba A, Saji H, 2009. Monitoring the occurrence of genetically modified oilseed rape growing along a Japanese roadside: 3-year observations. *Environ. Biosafety Res*, 8: 33-44.

OECD, 1999. Consensus document on general information concerning the genes and their enzymes that confer tolerance to phosphinothricin herbicide. Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology No. 11. Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), Paris.

Özcan S, 2009. Modern Dünyanın Vazgeçilmez Bitkisi Mısır: Genetiği Değiştirilmiş (Transgenik) Mısırın Tarımsal Üretimine Katkısı. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 2: 1-34.

Özcan S, 2011. Genetiği değiştirilmiş bitkiler ve sosyo-ekonomik etkileri. Uluslararası Katılımlı 1. Ali Numan Kırış Tarım Kongresi ve Fuarı 27-30 Nisan 2011, Eskişehir. Cilt 1: 75-82.

Peak SD, Walsh TJ, Benton CE, Brake J, 2000. Effects of two planes of nutrition on performance and uniformity of four strains of broiler chicks. *J. Appl. Poult. Res.*, 9, 185- 194

Pilacinski W., A. Crawford, R. Downey, B. Harvey, S. Huber, P. Hunst, L.K. Lahman, S. MacIntosh, M. Pohl, C. Rickard, L. Tagliani, N. Weber. 2011. Plants with genetically modified events combined by conventional breeding: An assessment of the need for additional regulatory data. *Food and Chemical Toxicology* 49: 1–7.

Ridley WP, Sidhu RS, Pyla PD, Nemeth MA, Breeze ML, Astwood JD, 2002. Comparison of the Nutritional Profile of Glyphosate-Tolerant Corn Event NK603 with That of Conventional Corn (*Zea mays* L.). *J. Agric. Food Chem.*, 50 (25), 7235–7243.

Richard, S., Moslemi, S., Sipahutar, H., Benachour, N., Seralini, G.E., 2005. Differential effects of glyphosate and roundup on human placental cells and aromatase. *Environ. Health Perspect.*, 113:716-720.

Rizzi A, Agosti F, Daffonchio D, Sorlini C, 2001. Detection of genetically modified Bt-maize in cooked food products by PCR. *Ital. J. Food Sci.*, 13:265-273.

Rizzi A, Panebianco L, Giaccu D, Sorlini C, Daffonchio D, 2003. Stability and recovery of maize DNA during food processing. *Ital. J. Food Sci.*, 15:499-510.

Rizzi A, Raddadi N, Sorlini C, Nordgard L, Nielsen KM, Daffonchio D, 2012. The stability and degradation of dietary DNA in the gastrointestinal tract of mammals: Implications for horizontal gene transfer and the biosafety of GMOs, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52:142-161.

Smith DS, Maxwell PW, 2007. Use of quantitative PCR to evaluate several methods for extracting DNA from corn flour and corn starch, *Food Control*, 18:236-242.

Smith ER, Pesti GM, Kakalli RI, Ware GO, Menten JFM, 1998. Further experiments on the influence of genotype and dietary protein on the performance of broilers. *Poult. Sci.*, 77, 1678-1687.

Taylor ML, Hartnell GF, Riordan SG, Nemeth MA, Karunanandaa K, George B, Astwood JD. 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(5):823-830.

Treu R, Emberlin J, 2000. Pollen dispersal in the crops Maize (*Zea mays*), Oil seed rape (*Brassica napus ssp oleifera*), Potatoes (*Solanum tuberosum*), Sugarbeet (*Beta vulgaris ssp. vulgaris*) and Wheat (*Triticum aestivum*). A report for the Soil Association from the National Pollen Research Unit, University College Worcester WR2 6AJ.  
[http://92.52.112.178/web/SA/saweb.nsf/848d689047cb466780256a6b00298980/80256ad800554549802568660075e5b4/\\$FILE/Pollen%20Dispersal%20Report.pdf](http://92.52.112.178/web/SA/saweb.nsf/848d689047cb466780256a6b00298980/80256ad800554549802568660075e5b4/$FILE/Pollen%20Dispersal%20Report.pdf)

Vaitilingom M, Pijnenburg H, Gendre F, Brignon P, 1999. Real-time quantitative PCR detection of genetically modified Maximizer Maize and Roundup Ready Soybean in some representative foods. *J. Agric. Food Chem.*, 47:5261-5266.

Vendômois JS, Roullier F, Cellier D, Seralini GE 2009. A Comparison of the Effects of Three GM Corn Varieties on Mammalian Health. *International Journal of Biological Sciences*. 5(7): 706-726.

William PR, Ravinder SS, Paul DP, Margaret AN, Matthew LB, James DA, 2002. Comparison of the Nutritional Profile of Glyphosate-Tolerant Corn Event NK603 with That of Conventional Corn (*Zea mays* L.) *J. Agric. Food Chem.* 50, 7235-7243.

Zabik JM, Wolt JD, Borgmeier DJ, Storer N, 2003. Public interest document for maize-optimized Cry1F-protected corn event TC6275. GH-C 5659. MRID 460193-12.

Zhang W, Shi F, 2011. Do genetically modified crops affect animal reproduction? A review of the ongoing debate. *The Animal Consortium Animal*, 1-2.

Zolla L. Rinalducci S, Antonioli P, Righetti PG, 2008. Proteomics as a complementary tool for identifying unintended side effects occurring in transgenic maize seeds as a result of genetic modifications. Journal of Proteome Research, 7: 1850-1861.

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