

GIDA AMACIYLA İTHALİ İSTENEN GENETİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ (*MON 88017 x MON 810*) MISIR ÇEŞİDİ VE ÜRÜNLERİ İÇİN BİLİMSEL RİSK DEĞERLENDİRME RAPORU

1. RAPORUN HAZIRLANIŞ GEREKÇESİ VE DAYANAKLARI

Bu rapor, Coleoptera ve Lepidoptera takımlarına bağlı bazı zararlı türlere dayanıklılığın (Cry3Bb1 ve Cry1Ab) ve glifosat'a toleransın (CP4 EPSPS) sağlanması amacı ile genetiği değiştirilmiş mısır çeşidinin gıda amaçlı ithalatı için, 5977 sayılı Biyogüvenlik Kanunu ve 13.08.2010 tarihli 27671 sayılı "Genetik Yapısı Değiştirilmiş Organizmalar ve Ürünlerine Dair Yönetmelik" uyarınca Biyogüvenlik Kurulunun 03.03.2011 tarih ve 6 No'lu kararı ile oluşturulan ve bu karar doğrultusunda görevlendirilen Bilimsel Risk Değerlendirme Komitesi tarafından hazırlanmıştır.

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

Rapordaki bilgiler; ithalatçı 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 KURULUŞ

Türkiye Gıda ve İçecek Dernekleri Federasyonu İktisadi İşletmesi

3. İTHAL EDİLMEK İSTENEN ÇEŞİT VE ÜRÜNLERİ

MON 88017 x MON 810; glifosat'a (CP4 EPSPS) tolerans gösteren, *Bacillus thuringiensis* subsp. *kumamotoensis*'e ait *cry3Bb1* geni ile *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*'ye ait *cry1Ab* geninin ürettiği toksinler nedeniyle, Lepidoptera ve Coleoptera takımlarında yer alan hedef zararlı türlere dayanıklı olarak tanımlanan melez mısır çeşididir.

4. ÇEŞİDİ GELİŞTİREN KURULUŞ

Monsanto Europe S.A. Avenue de Tervuren 270-272B-1150 Brussels – BELGIUM

On behalf of Monsanto Company 800 N. Lindbergh Boulevard St. Louis, Missouri 63167 – USA

5. ÇEŞİDİN GELİŞTİRİLME AMACI

Monsanto firması MON 88017 x MON 810 melez mısır çeşidini, Lepidoptera ve Coleoptera takımlarında yer alan hedef zararlı türlere dayanıklı, glifosat herbisidine ise toleranslı olması amacıyla geliştirmiştir.

6. RİSK ANALİZİ VE DEĞERLENDİRİLMESİ

MON 88017 x MON 810 melez mısır çeşidine ve bundan üretilen gıda ürünlerine ait bilimsel risk analiz ve değerlendirilmesi; bu çeşidin geliştirilmesinde kullanılan gen aktarım yöntemi, aktarılan genlerin ve ürünlerinin moleküler düzeyde tanımlanması, çeşidin muhtemel allerjik ve toksik etkileri ile çevre ve biyolojik çeşitlilik üzerine olası riskleri dikkate alınarak yapılmıştır.

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

6.1. Moleküler Genetik Yapı Tanımlanması ve Değerlendirilmesi

6.1.1. Aktarılan genleri taşıyan vektörlerin yapısı ve gen aktarım yöntemi

MON 88017 x MON 810 melez mısır çeşidinde Çizelge 1'de verilen genetik elementler bulunmakta olup, gen aktarımında MON 88017 için PV-ZMIR39 ve MON 810 için PV-ZMBK07 plazmidleri kullanılmıştır.

Çizelge 1. MON 88017 x MON 810 mısır çeşidine aktarılan genler ve kaynakları

Aktarılan genler (MON 88017):	
<i>cry3Bb1</i>	Kaynak: <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kumamotoensis</i>
<i>cp4 epsps</i>	Kaynak: <i>Agrobacterium tumefaciens</i>
Aktarılan genler (MON 810):	
<i>cry1Ab</i>	Kaynak: <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>

Melez çeşidin geliştirilmesinde, Coleoptera takımında yer alan bazı zararlı türlere (*Diabrotica* spp.) dayanıklılığı sağlayacak Cry3Bb1 proteinini ve glifosat'a tolerans sağlayacak CP4 EPSPS proteinini üreten MON 88017 ile Lepidoptera takımına bağlı zararlı türlere (örn. *Ostrinia nubilalis*, *Sesamia* spp.) dayanıklılığı sağlayacak Cry1Ab proteinini üreten MON 810 anaç olarak kullanılmıştır.

MON 88017 x MON 810 melez mısır çeşidi; *A. tumefaciens* yöntemiyle gen aktarılmış MON 88017 (Coleoptera takımına bağlı zararlılara dayanıklı, glifosat'a toleranslı) çeşidi ile partikül bombardımanı yöntemiyle gen aktarılmış MON 810 (Lepidoptera takımına bağlı zararlılara dayanıklı) çeşidinin klasik olarak melezlenmesi ile elde edilen ve bu özelliklerin tümünü içeren bir çeşittir (EFSA, 2009a).

6.1.2. Aktarılan genlerin moleküler yapısı, anlatımı ve stabilitesi

Bu melez çeşit, daha önce elde edilen iki transgenik çeşidin (MON 88017 ve MON 810) klasik olarak melezlenmesinden elde edilmiş olup, herhangi bir genetik değişiklik yapılmamıştır. Bu nedenle, anaçların genetik yapısı melez çeşidin genetik yapısını oluşturmaktadır.

MON 88017 çeşidinde 2 gen kaseti bulunmaktadır. Bunlardan *cp4 epsps* gen kasetinde, çeltikten elde edilen ve aktarılan genin anlatımını sağlayan aktin 1 promotörü (*Act 1*) ile *ract 1* aktin intronu; *Arabidopsis*'den elde edilen ve EPSPS proteinini kloroplasta transfer ederek amino asitlerin sentezini sağlayan CTP2 dizini; *A. tumefaciens*'den elde edilen değiştirilmiş *cp4 epsps* geni (serin yerine lösin amino asidini içermektedir) ve *A. tumefaciens*'in T-DNA'sından elde edilerek mRNA'nın kopyalanmasını sonlandıran *nos 3'* geni bulunmaktadır.

Çeşidin *cry3Bb1* gen kasetinde ise, karnabahar mozaik virüsünden elde edilen ve aktarılmış genin tüm dokularda sürekli olarak anlatımını gerçekleştiren P-e35S promotörü; hedef genin anlatımını artıran buğday klorofil *a/b* bağlayıcı proteininin çevirisi yapılmamış 5'-terminal bölgesi; çeltikten elde edilen ve aktarılan genin anlatımını sağlayan *ract 1* aktin intronu; *B. thuringiensis*'den elde edilen, *Cry3Bb1* proteinini sentezleyen *cry3Bb1* geni ve kopyalamayı sonlandıran çevirisi yapılmamış *tahp 17 3'* ısı şok proteini geninin 3'-terminal bölgesi yer almaktadır.

T-DNA bölgesinin dışında yer alan bileşenleri ise, *A. tumefaciens*'den bitki genomuna aktarılan ve T-DNA'nın aktarım başlangıç noktasını oluşturan, "Ti" plazmidi pTiT37'den elde edilen nopalin tipi T-DNA'nın sağ sınırını belirleyen RB dizini; *S. aureus*'dan elde edilen ve spektinomisin ile streptomisin antibiyotiklerine dayanıklılığı sağlayan *aad* geni; *E. coli*'de vektörlerin bağımsız kopyalanmalarını sağlayan pBR322'den izole edilen kopyalama dizini ori-322; *E. coli*'de plazmidleri sürekli olarak kopyalayan primer proteini baskı altına alan ROP dizini; *A. tumefaciens*'de vektörlerin bağımsız kopyalanmalarını sağlayan plazmid RK2'den izole edilen kopyalama dizini ori-V ve *A. tumefaciens*'den bitki genomuna aktarılan ve T-DNA'nın aktarım bitişi noktasını oluşturan "Ti" plazmidi pTi15955'den elde edilen T-DNA'nın sağ sınırını belirleyen LB dizini oluşturmaktadır (Anonim, 2004).

MON 810 çeşidinde ise sadece *cry1Ab* gen kaseti bulunmaktadır. Bu kasette, karnabahar mozaik virüsünden elde edilmiş ve etkisi artırılmış 35S promotörü; mısırdan elde edilen ve bitkilerde yabancı genlerin çalışmasını sağlayan ısı şok protein geninin Hsp70 intronu; *B. thuringiensis* subsp. *krustak*'den elde edilen *Cry1Ab* proteinini kodlayan *cry1Ab* geni ve *A. tumefaciens*'in T-DNA'sından elde edilerek mRNA'nın kopyalanmasını sonlandıran *nos 3'* geni yer almaktadır (Anonim, 2004).

MON 88017 x MON 810 melez mısır çeşidinde, yeni aktarılan *cry3Bb1*, *cry1Ab* ve *cp4 epsps* genlerinin, tanelerdeki anlatım düzeyleri ELISA testi ile analiz edilmiştir. Melez ve anaçları Amerika'da mısır tarımının yoğun olarak yapıldığı bölgede yetiştirilerek doku örnekleri alınmıştır. Çeşidin, insan gıdası olarak kullanılacağı düşünülerek özellikle tanelerdeki protein anlatım düzeyleri belirlenmiştir. Melezdeki protein düzeyleri, anaçları ile karşılaştırıldığında, güvenlik açısından, sorun olmadığı görülmüştür. Laboratuvar analizleri ile anaçlarda bulunan hedef genlerin melezde toplandığı belirlenmiştir (EFSA, 2009a).

Yabancı bir DNA'nın, aktarıldığı organizmaya kendi DNA'sı gibi entegre olup stabil bir biçimde etkinliğini sürdürebilmesi tartışmalı bir konudur. Transgenlerin stabil olmadıklarına ilişkin doğrudan ve dolaylı kanıtlar ileri sürülmekte ve bunlardan elde edilen çeşitlerin gerçek ıslah çeşitleri olmadıkları vurgulanmaktadır (Pawloski ve Somers 1996). Transgenik bitkinin 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 Bileşimlerin ve Tarımsal Özelliklerin Değerlendirilmesi

MON 88017 x MON 810 melez çeşidinin elde edilme amacı temelde tarımsal performansın artırılmasıdır. Tarımsal verimlilik artırılırken melez mısırın gıda amaçlı kullanım özelliklerinin değiştirilmesi amaçlanmamıştır. Kimyasal kompozisyon ve tarımsal özelliklerin risk analizi bu mantık üzerinden yapılmıştır.

6.2.1. Kimyasal bileşim

MON 88017 x MON 810 melez çeşidinin tanelerine ilişkin kimyasal analizler, 2002 yılında Amerika'da deneme tarlalarında yetiştirilen materyal üzerinde yapılmıştır. Sonuçlar, klasik olarak geliştirilmiş ve aktarılan genler dışında genetik temeli melez mısır ile benzer olan kontrol çeşitleri ile karşılaştırılmıştır. Tane örneklerinde, amino asit, yağ asidi, mineraller (kalsiyum, demir, bakır, magnezyum, manganez, fosfor, potasyum, sodyum ve çinko) gibi maddeler analiz edilmiştir (OECD, 2002; EFSA, 2009a).

MON 88017 x MON 810 ile yapılan çalışmalarda silaj ve tanelerine ilişkin kimyasal analizler, 2002 yılında Amerika'da deneme tarlalarında yetiştirilen materyal üzerinde yapılmıştır. Sonuçlar, klasik olarak geliştirilmiş ve aktarılan genler dışında genetik temeli melez mısır ile benzer olan kontrol çeşitleri ile karşılaştırılmıştır (OECD 2002; EFSA 2009c). Silaj örneklerinde yağ, protein, kül, nem, toplam karbonhidrat, asit deterjan lifi, nötr deterjan lifi, fosfor ve kalsiyum; tane örneklerinde ise, asit deterjan lifi, nötr deterjan lifi, toplam diyet lifi, amino asit, yağ asidi, mineraller (kalsiyum, demir, bakır, magnezyum, manganez, fosfor, potasyum, sodyum ve çinko) gibi maddeler analiz edilmiştir. Melez mısır ve kontrol çeşitlerinde, tüm lokasyonlardan elde edilen veriler analiz edilip sonuçları karşılaştırıldığında, silaj ve taneler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır. Kontrol çeşidi ile karşılaştırıldığında MON 88017 x MON 810 melez mısır çeşidinin tanelerinde, alanin, linoleik asit, araşidik asit ve ferulik asitte önemli artışlar; eikosanoik asit, bakır, potasyum ve B2 vitamininde ise önemli azalmalar belirlenmiştir (EFSA 2009c). Bitki genomlarına yeni bir genetik materyal aktarıldığında, aktarılan bölgedeki değişiklik nedeniyle bitkinin fenotipinde ya da kimyasal yapısında beklenmeyen değişiklikler görülebilmektedir (Cellini ve ark. 2004; Latham ve ark. 2006; Rischer ve Oksman-Caldentey 2006). MON 88017 x MON 810 melez mısır çeşidi, silaj ve tane olarak içerdikleri kimyasal maddeler bakımından anaçları ile karşılaştırıldıklarında da, artışlar ya da azalışlar şeklinde istatistiksel olarak önemli farklılıklar belirlenmiştir (EFSA 2009c). Avrupa'nın farklı mısır yetiştirme bölgelerinde ekolojik lokasyonlarda 2004 yılında diğer bir transgenik mısır melez çeşidi 59122 x 1507 x NK603 ile yapılan tarla denemelerinde yemlik ve gıda ile ilgili özellikler ve tane ile ilgili veriler üzerinden, OECD (2002)'nin önerilerine uyumlu olarak, bileşim analizleri yapılmıştır. 59122 x 1507 x NK603 kontrol olarak kullanılan genetiği değiştirilmemiş ticari mısır çeşidi ile karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırmalar; yağ, protein, kül, nem, toplam karbonhidrat ve lif özellikleri; palmitik, stearik, oleik, linoleik yağ asitleri; amino asitler; kalsiyum, bakır, demir, magnezyum, manganez, fosfor, potasyum, sodyum, selenyum ve çinko gibi mineraller; E, B1, B2, folik asit, β-karoten gibi vitaminler ile fitik asit, rafinoz, tripsin inhibitör, inositol, furfurool, p-kumarik asit, ferulik asit gibi parametreler üzerinden yapılmıştır. 59122 x 1507 x NK603 ile kontrol olarak kullanılan genetiği değiştirilmemiş ticari mısır çeşidi arasında söz konusu parametreler bakımından, herbisit uygulama rejimlerine bağlı olarak lokasyonlar arasında önemli farklılıklar saptanmıştır. Buna karşılık, her bir lokasyonda genetiği değiştirilmiş üçlü melez mısır çeşidi parametreleri ile genetiği değiştirilmemiş ticari mısır çeşidi parametreleri arasında farklılıklar

gözlenmemiştir (OECD 2003; ILSI 2006). Genetik yapısı değiştirilmiş üçlü melez 59122 x 1507 x NK603'ün besin değerlerinin klasik melez mısırın besin değerlerinden farklı olmadığı rapor edilmiştir (EFSA 2009b).

6.2.2. Tarımsal özellikler

MON 88017 x MON 810 melez mısır çeşidinin, klasik çeşitlerle karşılaştırmalı olarak yapılan tarla denemeleri 2002 yılında Amerika'da dört ayrı lokasyonda gerçekleştirilmiştir. Tarımsal özellikler olarak çimlenme gücü, % 50 çiçeklenme gün sayısı, % 50 püskül oluşturma gün sayısı ve bitki boyu gibi özellikler değerlendirmeye alınmıştır. Ayrıca, biyotik ve abiyotik stres koşullarında tane ağırlığı gibi ölçümler de yapılmıştır. Melez mısır ile melez olmayan kontrol çeşitleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar belirlenmiştir. Bu farklılık sadece bir lokasyonda gözlenmiş tüm lokasyonlar birlikte değerlendirildiğinde ise farklılık olmadığı görülmüştür. Fenotipik karakterler ve tarımsal performans genel olarak değerlendirildiğinde, MON 88017 x MON 810 melez mısır çeşidi ile klasik kontrol çeşidi arasında, aktarılan üç gen (*cry1Ab*, *cry3Bb1* ve *cp4 epsps*) dışında, fark olmadığı sonucuna varılmıştır (EFSA, 2009a).

6.3. Toksikite Değerlendirmesi

Toksikolojik yönden yapılan değerlendirmeler sonucunda MON 88017 x MON 810 melez mısır çeşidini oluşturan anaçlarının (MON 88017 ve MON 810) insan gıdası olarak tüketilmeleri durumunda, toksisite bakımından klasik çeşitler kadar güvenilir olduğu EFSA'nın önceki raporlarında bildirilmiştir. Melez çeşit, bu iki anacın klasik olarak melezlenmesiyle elde edilmiş ve anaçlarda bulunan *cry1Ab*, *cry3Bb1* ve *cp4 epsps* genlerinin dışında farklı olarak yeni bir genetik değişiklik yapılmamıştır. Yapılan testler sonucunda, bu iki anacın melez çeşitte bir araya gelmesinden kaynaklanan herhangi bir etkileşim söz konusu olamayacağı ve bu nedenle gıda güvenliğinin olumsuz etkilenmeyeceği görüşüne varılmıştır (EFSA, 2009a).

Amerika'da yapılan bir araştırmada, kök kurduna dayanıklılığı sağlayan *cry3Bb1* genini içeren transgenik mısır çeşidi ve klasik mısır ile cinsiyetlerine göre ayrılmış 400 adet sıçan 90 gün süreyle beslenmişlerdir. Hayvanların genel sağlık durumu, canlı ağırlık artışları, yem tüketimi, klinik patoloji parametreleri (hematoloji, kan kimyası vb.), organ ağırlıkları ve dokuların mikroskopik görünüşleri değerlendirildiğinde, transgenik mısır çeşidinin, besleyicilik ve güvenlik bakımından, klasik mısır çeşitleri ile benzer olduğu vurgulanmıştır (Hammond ve ark., 2006).

Genetik yapısı değiştirilmiş mısır çeşitleri GA21 ve NK603 ile beslenen danalarda performans ve karkas özellikleri olumsuz etkilenmemiştir. Yani, genetik yapı değişiklikleri genel sağlığı ve besi performansını etkilememiştir (Erickson ve ark., 2003).

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

Söz edilen çalışmalarda 1507 ve 59122 mısır çeşidinin tohumları klasik (transgenik olmayan) mısır çeşitlerinin tohumları ile besin öğeleri açısından aynı olduğu ve güvenli olduğu belirtilmektedir (MacKenzie ve ark. 2007; Malley ve ark. 2007). Sprague–Dawley sıçanlarında, Appenzeller ve ark.

(2009) 1507 x 59122 mısır çeşidini, yakın izogenik kontrolü (091) ile karşılaştırarak uzun süreli (92 gün) besleme çalışması yapmışlardır. Çalışmanın sonucunda 091 mısır çeşidi ile 1507 x 59122 uygulama grubu arasında besi performansı, klinik ve nörolojik davranış bulguları, oftalmoloji, klinik patoloji (hematoloji, klinik kimya, koagülasyon ve idrar analizi), organ ağırlıkları, makroskobik ve mikroskobik patoloji bulgularında anlamlı farklılıklar bulunmadığı belirtilmiştir.

Genetik yapısı değiştirilmiş mısır çeşidi 59122 ve genetik yapısı değiştirilmemiş eşdeğer mısır çeşidi ile sıçanlarda yapılan 90 gün süreli besleme çalışması sonucunda, belirli hematolojik ve biyokimyasal değişkenlerde önemli farklılıklar gözlenmiştir. Ancak, araştırmacılar bu sonucun diyetle yoğun ve kaynağı belirsiz mısır unu kullanılmış olmasından kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir (He ve ark. 2008, 2009),

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

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

Genetik yapısı değiştirilmiş mısırla 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).

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 sağlığı ve besi performansını etkilememiştir (Erickson ve ark. 2003).

Genetik yapısı değiştirilmiş mısır NK603 ile beslenen sıçanların genel sağlık, organ ağırlıkları, gıda 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).

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

Çizelge 2. Genetiği değiştirilmiş ürünlerle beslenen hayvanlarda yapılan deneysel çalışmalara ait bazı sonuçlar				
Bitki	Hayvan türleri	Çalışma süresi	Etkiler	Kaynaklar
MISIR				
MON863	Sıçanlar	90 gün	Erkek (%3.3 azalma) ve dişilerde (% 3.7 artış) değişik oranda doza dayalı ağırlık değişimleri. Hepoteronal toksisite belirtileri, dişilerde trigliserit artışı (% 24-40) ve erkeklerde idrarda fosfor ve sodyum atılımında azalma (%31-35)	Seralini ve ark (2007,2009)
NK603, MON810 ve MON863	Sıçanlar	14 hafta	Üç GDO tüketimi ile ilişkilendirilen cinsiyet ve doz bağımlı, çoğunlukla hepatorenal toksisite ile ilgili yan etkiler. Kalp, dalak, böbrek üstü bezleri ve hematopietik sistemde diğer yan etkilerde belirlenmiştir.	de Vendomois ve ark (2009)
Mısır 1507	Dawley sıçanları	90 gün	Deneme grupları arasında besi performansı, klinik ve nörolojik davranış belirtileri, oftalmoloji ile birlikte klinik patoloji, organ ağırlıkları, makroskobik ve mikroskobik patoloji bakımından anlamlı bir fark gözlenmemiştir	MacKenzie ve ark (2007)
Mısır 59122	Sıçanlar	90 gün	Vücut ağırlığı, besin tüketimi, klinik toksisite belirtileri, ölüm, oftalmoloji, nörolojik 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 nörolojik davranış belirtileri, oftalmoloji ile birlikte klinik patoloji, organ ağırlıkları, makro ve mikroskobik patoloji bakımından anlamlı bir fark gözlenmemiştir	Appenzeller ve ark. (2009)
DAS-59122-7	Dawley sıçanları	90 gün	Bazı hematoloji ve serum kimyası ile ilgili değişkenlerde anlamlı farklılıklar gözlemlenmiş ve bu durum yüksek konsantrasyonda mısır unu içeren besinlerle beslenmelerine	He ve ark. (2008)

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

Dona ve Arvanitoyannis (2009) genetiği değiştirilmiş gıdalar ile ilgili yapılan pek çok çalışmanın sonuçlarını değerlendirdiği araştırmasında, 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 araştırılması 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

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda onaylanan genetiği değiştirilmiş gıdalarda genetiği değiştirilmemişlere göre alerjenik özelliğinin arttığına dair deneysel kanıt bulunmadığı belirtilmektedir (Batista ve Oliveira 2009).

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

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

da artmaktadır. Yapılan genetik değişikliğin karmaşıklığı beklenmeyen etkileri teşvik etmektedir (Kleter ve Kok 2010).

Wahl ve ark. (1984), transgenik organizmanın genomuna eklenmiş olan DNA'nın kromozomun yapısını bozacağını, kromozomların yeni bir düzenlemeye gitmelerine neden olabileceğini ve gen fonksiyonlarının etkilenebileceğini açıklamışlardır. Bu açıklama, bir organizmaya başka bir organizmadan aktarılan genetik materyalin mevcut genetik materyallerle allelik olmayan gen interaksiyonlarına girmesi durumunda önceden kestirilmeyen birtakım sonuçları da zaman içinde ortaya çıkabileceğine işaret etmektedir. Ancak, MON 88017 x MON 810 tanelerinde, alanin, linoleik asit, araşidik asit ve ferulik asit bakımından önemli artışlar; eikosanoik asit, bakır, potasyum ve B2 vitamini yönünden ise önemli azalmalar belirlenmiştir (EFSA 2009c).

Allelik olmayan gen interaksiyonları ve çevre ile olabilecek interaksiyonlar nedeniyle yeni genotipin patojenlerle ilişkileri ve çeşitli kimyasal savaşım araçlarına olan tepkimelerinde de değişiklik arz edebilecektir.

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

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

6.6. Çevresel Risk Değerlendirmesi

MON 88017 x MON 810 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.

MON 88017 x MON 810 melez mısır çeşidinin çevresel risk değerlendirmesi; hedef dışı organizmalara etkisi ve istenmeyen gen geçişleri olmak üzere iki başlık altında gerçekleştirilmiştir.

6.6.1. Hedef dışı organizmalara etkisi

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

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

MON 88017 x MON 810 mısır çeşidinde ekim söz konusu olmadığından sadece tane olarak çevresel etkisi irdelenmiştir. Bu durumda, etkilenen hedef dışı organizmalar olarak tane ve tane ürünleriyle beslenebilen böcekler ön plana çıkmaktadır. Transgenik bitkilerde *cry* genleri tarafından üretilen aktif toksinler hedef organizmaların barsağındaki epitel hücrelerinin plazma zarında bulunan özel reseptörlere bağlanırlar (Bravo ve ark. 2007; OECD 2007). Toksin, plazma zarına girerek önce zar içinde gözenekler daha sonra iyon kanalları oluşturarak tahribat yapar. Bu zar girişi işleminin biyokimyasal yapısı tam olarak anlaşılammıştır. 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). Habustova ve ark. (2006) tarafından *B. thuringiensis* var. *kurstaki* suşunun Cry1Ab proteini içeren MON 810 melez mısır çeşidi ile 3 yıl boyunca Çek Cumhuriyetinde tarla çalışmaları yapılmıştır. Çalışma sonucunda söz konusu genetiği değiştirilmiş mısır çeşidinin bitki üzerinde ve toprakta yaşayan hedef dışı arthropod populasyonları üzerine olumsuz bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir.

Çizelge 3 Çiftlik hayvanlarına yabancı DNA parçalarının transferine ait çalışmalar

Bitki	Hayvan Türleri	Transgenik DNA durumu	Non Transgenik DNA durumu	Kaynaklar
Bt Mısır (Silaj ve Dane)	Et ve yumurta tipi tavuklar,	Hayvan dokularında transgenik DNA ya rastlanmamıştır	Kas, karaciğer, dalak ve böbrekte bitkisel DNA lara rastlanmış, dışkı ve yumurtalarda rastlanmamıştır.	Einspanier ve ark. (2001)
Bt Mısır (Silaj ve Dane)	Besi sığırları ve süt inekleri	Hayvan dokularında transgenik DNA ya rastlanmamıştır	Besi sığırlarında kan, kas karaciğer ve böbreklerde süt ineklerinin dışkılarında rastlanmamıştır.	Einspanier et al. (2001)
Bt Mısır (Dane)	Domuzlar	Rektumda 48 saate kadar transgenik DNA ya rastlanmış, kan organ ve dokularda rastlanmamıştır	Kan organ ve dokularda ve sindirim sisteminde bitkisel DNA ya rastlanmıştır.	Reuter and Aulrich (2003)
Bt Mısır (Dane)	Broiler	Sindirim sisteminde transgenik DNA ya rastlanmış, kan organ ve dokularda rastlanmamıştır.	Kan organ ve dokularda ve sindirim sisteminde bitkisel DNA ya rastlanmıştır.	Tony ve ark. (2003)
Bt Mısır (Dane)	Bıldırcın (10 nesil çalışılmış)	Mide ve tüm sindirim sisteminde Transgenik DNA ya rastlanmış. Kas karaciğer, mide, dalak, böbrek, kalp ve yumurtada rastlanmamıştır.	Sindirim sisteminde bitkisel DNA ya rastlanmıştır.	Flachowsky ve ark. (2005)
Bt Mısır (Silaj)	Süt İneği		Sindirim Sisteminde Bt toksini bulunmuştur	Einspanier ve ark. 2004

Mon 810 (Dane ve silaj)	Süt İneği	Kan, süt ve idrarda transgenik 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)

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 böceklerin Cry proteinleri ile karşılaştıklarında, bir kısmının dayanıklı bir kısmının ise dayanıksız olduğu belirlenmiştir. Zararlıların doğal düşmanları olan böceklerin, Cry proteinlerinin etkisinde kalmaları halinde, özellikle predatörlerin gelişim oranlarında istatistiksel açıdan önemli düzeyde azalma olduğu belirlenmiştir. Ancak, Cry proteinlerinin bu böceklerin canlılıklarına herhangi bir olumsuz etkisi belirlenmemiştir. Üreme oranında belirlenen azalmalar ise istatistiksel olarak önemli düzeyde bulunmamıştır. Önemli artropodlardan olan arılar, kral kelebekleri ve ipek böcekleri gibi canlıların ve hedef dışı otçul böcekler ve tozlayıcı böceklerin de Cry proteinlerine farklı tepki gösterdikleri belirlenmiştir. Otçul zararlıların gelişmelerinde ve canlılıklarında önemli düzeyde azalma görülmesine karşın, tozlayıcılar bu öğeler bakımından Cry proteinlerinden etkilenmemişlerdir. Bu konuda yapılan tüm alan denemeleri irdelendiğinde ise, zararlılarla mücadelede önemli bir yeri olan doğal düşmanların Cry proteinlerinden istatistiksel açıdan önemli ölçüde olumsuz yönde etkilendiği; transgenik mısır alanlarında doğal düşmanların belli oranda azalmasına karşın bu azalmanın istatistiksel açıdan önemli olmadığı belirlenmiştir. Araştırmalar, çalışmanın yapıldığı laboratuvar ya da alan denemelerine göre de hedef olmayan organizmaların tepkilerinin farklı olduğunu göstermektedir. Ayrıca, kontrolü daha iyi sağlandığından, laboratuvar çalışmalarının tarla denemelerine oranla güvenilirliğinin yüksek olduğu bildirilmiştir (Naranjo, 2009).

6.6.2. Bitkiden bitkiye gen geçişleri

MON 88017 x MON 810 melez mısır çeşidi tarım amaçlı kullanılmayacağından, bitkiden-bitkiye gen geçişleri riski, taşıma ve gıda amaçlı işleme esnasında kazayla çevreye yayılma ile sınırlı tutulmuştur. Bitkiden bitkiye gen geçişlerinin potansiyel kaynaklarının tohum ve çiçektozu olduğu bilinmektedir. Mısır tohumlarının doğaya yayılması gıda işleme ve nakliye süreçleri sırasında da gerçekleşebilir.

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

Transgenik çeşitlerden diğer çeşit ve türlere doğrudan gen geçişleri üzerinde de farklı görüşler vardır. Bilindiği gibi, transgenik mısır çeşitleri (*Zea mays ssp. mays*) ile yabani mısır çeşitleri (*Zea mays ssp. mexicana*), yakın akraba olduklarından, genetik olarak uyum sağlarlar. Bu nedenle, çiçektozu 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 yabani mısır çeşidi bulunmadığından, bu ülkelerde riskin söz konusu olmadığı vurgulanmaktadır (Anonim, 2009).

6.6.3. Bitkiden bakteriye gen geçişleri

Genetik olarak değiştirilmiş MON 88017 x MON 810 mısır çeşidinde bulunan transgenlerin, insan ve hayvanların sindirim sistemlerinde bulunan mikroorganizmalarla karşılaşma riski bulunmaktadır. Genetiği değiştirilmiş bitkilerden mikroorganizmalara gen geçişinin temel olarak doğal koşullarda olağan olmadığı (EFSA 2004b; EFSA 2007a) ve mikroorganizmalarda yerleşiminin temel olarak homolog rekombinasyon yoluyla olduğu belirtilmektedir (Keese 2008).

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

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

Melez mısır ve anaçları ile yapılan çalışmada, tanelerde Cry1Ab ve Cry3Bb1 proteinlerinin miktarı çok düşük olduğundan, bunlardan çevreye yayılan protein miktarının da düşük olduğu belirlenmiştir. Altı farklı tarladan alınan örneklerde ELISA ve "Western Blot" tekniklerinden yararlanılarak yapılan testler sonucunda transgenik mısır çeşidinde (MON 810) Cry1Ab proteininin taze ağırlık olarak yaprakta 9,35 ug/g, tanede 0,37 ug/g, çiçektozunda 0,09 ug/g, tüm bitkide ise 4,15 ug/g düzeyinde biriktiği saptanmıştır (Anonim, 2009). Amerika ve Fransa'da 1994 ve 1995 yıllarında yapılan tarla araştırmalarında ise, transgenik bitkilerin hedef dışı organizmalara olumsuz etkilerinin olmadığı ve popülasyondaki miktarlarının klasik çeşitlere oranla farklılık göstermediği belirlenmiştir (Anonim 2009). Bu proteinlerin sindirim sisteminde

enzimlerle parçalanması, transgen özelliğinin kaybolmasının (Anonim 1988) yanında hayvan dışkılarında miktarlarının da düşük olmasını sağlamaktadır. Ayrıca, dışkılardaki mikrobiyel işlemler de bu proteinlerin çevreye yayılmalarını önlemede etkili olmaktadır. Topraktaki kil mineralleri tarafından Cry proteinlerinin tutulması da yayılmayı önleyen bir başka faktör olarak bilinmektedir. Bu nedenlerden dolayı, transgenik bitkilerden geçen Cry proteinlerinin toprakta birikmesi mümkün görülmemektedir (EFSA 2009a).

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

Ancak, bu verilerin aksini gösteren araştırmalar da bulunmaktadır. Örneğin, genetik yapısı değiştirilmiş organizmalardaki Cry proteininin, topraktaki kil mineralleri tarafından tutularak mikrobiyel işlemlerden korunmakla birlikte, tutulduğu sürece insektisidal aktivitesini sürdürdüğü (Koskella and Stotsky 1997; Crecchio ve Stotsky 1998; OECD 2007) ve tarlada yarılanma ömrünün 9-40 gün arasında olduğu (Marchetti ve ark. 2007; Accinelli ve ark. 2008) bildirilmiştir. DNA'nın ölü bitki dokularında, hücre duvarları aracılığı ile, en az birkaç gün, geçiş özelliğini koruyacak biçimde kalabildiği bilinmektedir (Nielsen ve ark. 2000). Bu süre içerisinde topraktaki transgenik bitki parçalarından toprak mikroorganizmalarına transgenler geçebilmektedir (Paget ve Simonet 1997). Araştırmalar, bitki DNA'sının, toprağın yapısına, pH değerine, nemine ve mikrobiyel aktivitesine bağlı olarak, birkaç saatle birkaç gün içerisinde toprak bakterilerine geçebileceğini göstermektedir (Anonim 2009).

Chowdhury ve ark. (2003a) ise, genetik yapısı değiştirilmiş StarLink CBH351 mısır çeşidi ile 8 domuzda ve genetik yapısı değiştirilmemiş mısır çeşidi ile de 8 domuzda yaptıkları besleme denemesi sonucunda; domuzların sindirim sisteminde rekombinant *cry9C* ve *zein* genlerini rektal bölgede, sırasıyla, %25.0-37.5 (242 ya da 329 baz çifti) ve %31.3 (242 ya da 329 baz çifti) olarak saptadıklarını açıklamışlardır. Duggan ve ark. (2003), böceklerle 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 iek 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 benzerliğı olmayan veya az miktarda dizi benzerliğı olan yabancı DNA'nın bakteri genomuna eklenmesinin doğal koşullarda çok dūřuk bir olasılık olduğu belirtilmektedir (Schluter ve ark. 1995). Herhangi bir heterolog DNA'nın entegrasyonunun alıcı genomuna homolog bir diziye bağlı ise artabileceğı belirtilmektedir (de Vries ve ark. 2002). Ancak bōyle bir entegrasyon bitki genomundan olan DNA'larda meydana geldiğı hiç gōsterilmemiřtir ve gıda tūketimi sonucunda sindirim sistemindeki bakterilere geçtiğine dair kanıt bulunmamaktadır (Batista ve Oliveira 2009). Gōrōldūęu gibi, yatay gen geçişlerinin olabileceğı birçok araştırıcı tarafından kabul edilmektedir. Ancak bunların etkileri konusunda farklı gōrūřler sōz konusudur. Ayrıca, transgenik gıdanın henūz ağızda çiğneme aşamasındayken bile yatay gen geçişlerinin olabileceğı ileri sūrūlmektedir. Mercer ve ark. (1999), insan tūkūrūklerinde 60 dakika sūre 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). Antibiyotięe dayanıklı markōr genlerin, transgenik bitki yaprağından toprak bakterisi *Acinetobacter*'e kolaylıkla geebildiğı bilinmektedir (de Vries ve Wackernagel 1998; Gebhard ve Smalla 1999). Bu nedenlerle, transgenik bitkilerde antibiyotiğe dayanıklılığı sağlayan bazı markōr genlerin kullanımı birçok AB ūyesi ūlkede yasaklanmıştır.

7. GENEL SONUÇ ve ÖNERİLER

Bilimsel Risk Deęerlendirme Komitesi, Coleoptera ve Lepidoptera takımlarına bağlı bazı zararlı tūrlere dayanıklılığın (Cry3Bb1 ve Cry1Ab) ve glifosat'a toleransın (CP4 EPSPS) sağlanması amacıyla ile genetiğı değiştirilmiş MON 88017 x MON 810 mısır çeşidinin gıda amaçlı ithal edilmesinin risklerini değerlendirmiştir. MON 88017 x MON 810 çeşidine biyoteknolojik yōntemlerle aktarılan genlerin yapısı, DNA dizilimi, promotōr ve terminatōr bōlgeleri, gen anlatım dūzeyleri, ekstra DNA dizileri ve gen aktarım yōntemi ayrıntılı olarak incelenmiştir.

Bu çeřitle ilgili deęerlendirme; bařvuru dosyasında yer alan dokūmanlar, risk deęerlendirmesi yapan çeřitli kuruluřların (EFSA, JRC/CRL-GMFF, WHO, FAO, FDA ve Japonya evre Bakanlığı) gōrūřleri ve bilimsel arařtırmaların sonuçlarını içeren makaleler (alerjik ve toksik etki analizleri, genetik modifikasyonun stabilitesi, hedef dıřı organizmalara etkisi vb.) ile farklı ūlkelerde kullanım durumları gōz ūnūnde bulundurulmuşlardır. Yine bu genetiğı deęiřtirilmiř çeřitte yapılan hayvan besleme çalıřmaları incelenerek gıda olarak kullanımı sonucu ortaya çıkabilecek riskler deęerlendirilmiřtir. Ek olarak bu mısır çeřidinin ūlkemizde istem dıřı yayılması durumunda ortaya çıkabilecek biyoeřitliliğı tehdit etmesi olası çevresel riskler gōz ūnūnde bulundurulmuřtur.

Bilimsel Risk Değerlendirme Komitesi;

- Coleoptera takımına bağlı zararlılara dayanıklı ve glufosat'a toleranslı MON 88017 ile Lepidoptera takımına bağlı zararlılara dayanıklı MON 810'un klasik olarak melezlenmesi sonucunda elde edilen ve bu özelliklerin tümünü içeren melez mısır çeşidinde (MON 88017 x MON 810), her bir gen için gerçekleştirilen transformasyon ve sonrasındaki integrasyonun stabil olmadığı,
- MON 88017 x MON 810 melez mısır çeşidinin genetiği değiştirilmemiş ticari mısır çeşidi ile benzer özelliklere ve bileşime sahip olduğu, ancak herbisit uygulama rejimlerine bağlı olarak farklı çevre koşullarının etkili olabileceğinin göz ardı edilmemesi gerektiği,
- aktarılan genlerin moleküler yapı ve anlatım analizlerinden, MON 88017 ve MON 810 mısır anaçları arasında yapılacak melezleme çalışmaları sırasında söz konusu genlerin birbirleriyle etkileşim içine girerek tarımsal değişikliklere neden olabilecek yeni proteinlerin sentezlenmesine yol açmayacakları,
- MON 88017 x MON 810 melez mısır çeşidinin 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 savaşım araçlarına olan tepkimelerinde de değişiklik olabileceğinin göz önünde tutulması gerektiği,
- MON 88017 x MON 810 melez mısır çeşidi ile ilgili ürünlerin toksik etkileri ve sağlıkla ilgili endişelere neden olan yönleri mevcut çalışmalarda kesin sonuca ulaşmadığı, zira bazı çalışmalar olumsuz etkilerin gözlemlendiğini belirtirken bazıları da hiçbir olumsuz etkinin olmadığını gösteren sonuçlara vardığı, olası toksik etkilerin belirlenerek bir sonuca varılabilmesi için daha fazla araştırmanın ve GD gıdaların mutajenik ve karsinojenik etkilerini belirlemek için detaylı testlerin yapılması gerektiği,
- mısırın yabancı döllenme özelliği nedeniyle, yayılacak genlerin çevresel etkileri açısından genetik yapısı değiştirilmiş MON 88017 x MON 810 melez mısır çeşidi ile genetik yapısı değiştirilmemiş ticari melez çeşitleri ve ebeveyni olan MON 88017 ve MON 810 arasında fark olmadığı; ancak hedef dışı organizmalara istem dışı yollarla gen geçişlerinin olabileceği, kullanım amacının insan gıdası olması nedeniyle bu konunun daha da önemli olacağı,

sonucuna varmıştır.

Yukarıdaki açıklamaların ışığında genetiği değiştirilmiş MON 88017 x MON 810 melez mısır çeşidinin **gıda olarak” kullanılması UYGUN OLMADIĞINA OY ÇOKLUĞU İLE karar verilmiştir.**

8. RİSK YÖNETİMİ

Risk yönetiminin planlanması ve bu planının uygulanması “Bilimsel Risk Değerlendirme Komitesi”nin sorumluluğu dışındadır. MON88017xMON810 mısır çeşidinin taşınma ve işlenmesi sırasında kazayla çevreye yayılması sonucu olası çevre ve biyoçeşitliliğe ilişkin riskler ortaya çıkabilir. Bu durumda, 5977 sayılı “Biyogüvenlik Kanunu”, ilgili yönetmelikleri ve Biyogüvenlik Kurulu kararları uyarınca;

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

hususunda belirtilen konulara titizlikle uyulmalıdır.

9. 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., M. Barchitta, A. Grillo, and S. Sciacca. 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, 2004. Outline of the biological diversity risk assessment report: Type 1, use approval for MON810 x NK603 Japanese Biosafety Clearing House, Ministry of Environment. Monsanto Japan Limited, Ginza Sanno Bldg. 8F, 4-10-10, Ginza, Chuo-ku, Tokyo, p. 32.
- Appenzeller, L.M., Malley, L., MacKenzie, S.A., Hoban, D. and Delaney, B., 2009. Subchronic feeding study with genetically modified stacked trait lepidopteran and coleopteran resistant (DAS-Ø15Ø7-1xØAS-59122-7) maize grain in Sprague–Dawley rats. *Food Chem. Toxicol.* 47: 1512–20.
- 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 in Biotechnology* Vol.27 No.5277-286
- 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.
- 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>.
- 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, E.H., O. Mikami, Y. Nakajima, H. Kuribara, A. Hino, K. Suga, M. Hanazumi, and Y. Yomemochi. 2003a. Detection of genetically modified maize DNA fragments in the intestinal contents of pigs fed Starlink™ CBH351. *Vet. Human Toxicol.* 45(2):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.
- Crecchio, C. and Stotsky, G., 1998. Insecticidal activity and biodegradation of the toxin from *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki* bound to humic acids from soil. *Soil Biology and Biochemistry* 30 (4): 463-470.
- Deaville, E.R. and Maddison, 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 three GM corn varieties on mammalian health. *Int. J. Biol. Sci.*, 7: 706–726.
- De Vries, J. and Wackernagel, W., 1998. Detection of *nptII* (kanamycin resistance) genes in genomes of transgenic plants by marker-rescue transformation. *Mol. Gen. Genet.* 257: 606-613.
- De Vries, J. and Wackernagel, W. 2002. Integration of foreign DNA during natural transformation of *Acinetobacter* sp. by homology-facilitated illegitimate recombination. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 99, 2094–2099
- Dona A and Arvanitoyannis IS (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. Nutrition*, 89 (2), 159-166.
- EFSA (2004a) Opinion of the scientific panel on genetically modified organisms on a request from the commission related to the notification (Reference C/NL/00/10) for the placing on the market of insect-tolerant genetically modified 1507 maize, for import and processing, under Part C of Directive 2001/18/EC from Pioneer Hi-Bred International/Mycogen Seeds. *The EFSA Journal* 124: 1-18.

- EFSA (2004b) Opinion of the scientific panel on genetically modified organisms on the use of antibiotic resistance genes as marker genes in genetically modified plants. The EFSA Journal 48: 1-18.
- EFSA (2005a) Opinion of the scientific panel on genetically modified organisms on an application for the placing on the market of insect-tolerant genetically modified 1507 maize, for food use, under regulation (EC) No 1829/2003 from Pioneer Hi-Bred International/Mycogen Seeds. The EFSA Journal 182: 1-22.
- EFSA (2005b) Opinion of the scientific panel on genetically modified organisms on a request from the commission related to the notification (Reference C/ES/01/01) for the placing on the market of insect-tolerant genetically modified maize 1507, for import, feed and industrial processing and cultivation, under Part C of directive 2001/18/EC from Pioneer Hi-Bred International/Mycogen Seeds. The EFSA Journal 181: 1-33.
- EFSA (2007a) Guidance document of the scientific panel on genetically Modified Organisms for the risk assessment of genetically modified plants containing stacked transformation events The EFSA Journal 512: 1-5.
- EFSA (2007b) Opinion of the scientific panel on genetically modified organisms on an application (Reference EFSA-GMO-NL-2005-12) for the placing on the market of insect-resistant genetically modified maize 59122, for food and feed uses, import and processing under regulation (EC) No 1829/2003, from Pioneer Hi-Bred International, Inc. and Mycogen Seeds, c/o Dow Agrosciences LLC. The EFSA Journal 470: 1-25.
- EFSA (2009a) SCIENTIFIC OPINION Application (Reference EFSA-GMO-NL-2005-15) for the placing on the market of the insect-resistant and herbicide-tolerant genetically modified maize 1507 x 59122, for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Mycogen Seeds, c/o Dow AgroSciences LLC and Pioneer Hi-Bred International, Inc. as represented by Pioneer Overseas Corporation. The EFSA Journal 1074: 1-28.
- EFSA, 2009b. Scientific Opinion: Application (Reference EFSA-GMO-CZ-2006-33) for the placing on the market of the insect-resistant and glyphosate-tolerant genetically modified maize MON 88017 x MON 810, for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Monsanto. The EFSA Journal, 1192: 1-27.
- EFSA (2009c) Scientific Opinion: Application (Reference EFSA-GMO-CZ-2006-33) for the placing on the market of the insect-resistant and glyphosate-tolerant genetically modified maize MON 88017 x MON 810, for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Monsanto. The EFSA Journal 1192: 1-27.
- Einspanier R, Andreas K, Jana K, Karen A, Rita P, Fredi S, Gerhard J and Gerhard F (2001) The fate of forage plant DNA in farm animals: a collaborative case-study investigating cattle and chicken fed recombinant plant material. Eur Food Res Technol 212(2): 129-134.
- Einspanier R, Lutz B, Rief S, Berezina O, Zverlov V, Schwarz W and Mayer J (2004) Tracing residual recombinant feed molecules during digestion and rumen bacterial diversity in cattle fed transgene maize. Eur Food Res Technol 218(3): 269-273.

- FAO/WHO, 2000. Safety aspects of genetically modified foods of plant origin. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Foods Derived from Biotechnology, World Health Organisation (WHO), Geneva, Switzerland, p 35.
- Flachowsky G, Halle I and Aulrich K (2005) Long term feeding of Bt-corn – a ten generation study with quails. *Arch Anim Nutr* 59(6): 449-451.
- Gebhard, F. and Smalla, K., 1999. Monitoring field releases of genetically modified sugar beets for persistence of transgenic plant DNA and horizontal gene transfer. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 28: 261-272.
- Habustova, O., 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.
- He, X.Y., Huang, K.L., Li, X., Quin, W., Delaney, B. and Luo, Y.B., 2008. Comparison of grain from corn rootworm resistant transgenic DAS-59122-7 maize with non/transgenik 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.
- 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.
- Ho M-W, Ryan A and Cummins J (1999) Cauliflower mosaic viral promoter – a recipe for disaster? *Microb Ecol Health Dis* 11: 194-197
- Hull R, Covey SN and Dale P (2000) Genetically modified plants and the 35S promoter: assessing the risks and enhancing the debate. *Microb Ecol Health Dis* 12: 1-5.
- ILSI (2006) ILSI Crop Composition Database Web site. Version 3.0 <http://www.cropcomposition.org/>Jonas, D.A. et al. 2001 Safety considerations of DNA in food. *Ann Nutr Metab* 45: 235-254.
- Jonas, 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.
- Keese P (2008) Risks from GMOs due to horizontal gene transfer. *Environmental Biosafety Research* 7: 123-149.

- 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.
- Lander ES et al. (2001) Initial sequencing and analysis of the human. *Nature* 409: 860-921.
- Latham, J.R., Wilson, A.K. and Steinbrecher, R.A., 2006. The mutational consequences of plant transformation. *J Biomed. Biotechnol.*, 25376: 1–7.
- Losey, J.E., Rayor, L.S. and Carter, M.E., 1999. Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature* 399:214.
- 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 LA, Everds NE, Reynolds J, Mann PC, Lamb I, Rood T, Schmidt J, Layton RJ, Prochaska LM, Hinds M, Locke M, Chui C-F, Claussen F, Mattsson JL and Delaney B (2007) Subchronic feeding study of DAS-59122-7 maize grain in Sprague Dawley rats. *Food Chem Toxicol* 45: 1277-1292.
- Marchetti E, Accinelli C, Talame V and Epifani R (2007) Persistence of Cry toxins and *cry* genes from genetically modified plants in two agricultural soils. *Agronomy for Sustainable Development* 27 (3): 231-236.
- Mercer, D.K., Scott, K.P., Bruce-Johnson, W.A., Glover, L.A. and 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 Microbiology*, 65: 6–10.
- 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., Smalla, K., van Elsas, J.D., 2000. Natural Transformation of *Acinetobacter* sp. Strain BD413 with Cell Lysates of *Acinetobacter* sp., *Pseudomonas fluorescens*, and *Burkholderia cepacia* in Soil Microcosms. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 206-212.
- OECD, 2000. Report of the task force for the safety of novel foods and feeds, May 2000. C(2000)86/ADD1. Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), Paris, 72.
- OECD, 2002. Consensus document on compositional considerations for new varieties of maize (*Zea mays*): Key food and feed nutrients, anti-nutrients and secondary plant metabolites. ENV/JM/MNO, 6: 1-42.

- OECD, 2007. Consensus document on safety information on transgenic plants expressing *Bacillus thuringiensis* – derived insect control proteins. Series on Harmonisation Regulatory Oversight in Biotechnology, Number 42 Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), Paris, 109 pp.
- Paget, E. and Simonet, P., 1997. Development of engineered genomic DNA to monitor the natural transformation of *Pseudomonas stutzeri* in soil-like microcosms. *Can. J. Microbiol.*, 43: 78-84
- Palau-delmas M, Penas G, Mele E, Serra J, Salvia J, Pla M, Nadal A and Messeguer J (2009) Effect of volunteers on maize gene flow. *Transgenic Research* 18: 583-594.
- Pawlowski, 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.
- 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.
- Rischer, H. and Oksman-Caldentey, K.M., 2006. Unintended effects in genetically modified crops: revealed by metabolomics? *Trends Biotechnol.*, 24 (3) :102–104.
- Rissler, J. and Mellon, M., 1993. Perils amidst the promise. Ecological risks of transgenic crops in a global market. Union of Concerned Scientists, Cambridge, MA.
- Salyers, A., 1997. Horizontal gene transfer between prokaryotes. *Nordic Seminar on Antibiotic Resistance Marker Genes and Transgenic Plants*, p. 8-16. June 12-13, 1997, Oslo, Norway. The Norwegian Biotechnology Advisory Board.
- Sanvido, O., Romeis, J and, Bigler, F. ,2007. Ecological impacts of genetically modified crops: ten years of field research and commercialcultivation. *Adv Biochem Eng Biotechnol* 107:235–278.
- Schluter K, Futterer J and Potrykus I (1995) Horizontal gene-transfer from a transgenic potato line to a bacterial pathogen (*Erwinia-chrysanthem*) occurs, if at all, at an extremely low-frequency. *BioTechnology* 13: 1094-1098.
- Séralini, G., Cellier, D. and de Vendomois, J.S., 2007. New analysis of a rat feeding study with a genetically modified maize reveals signs of hepatorenal toxicity. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 52: 596–602.
- Séralini G, de Vendômois JS, Cellier D, Sultan C, Buiatti M and Gallagher L (2009) How subchronic and chronic health effects can be neglected for GMOs, pesticides or chemicals. *Int J Biol Sci* 5: 438-443.

- Smalla, K., Wellington, E. and van Elsas, 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. *Proc Nat. Acad. Sci. USA*, 96: 11117-11121.
- 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.
- 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, Gmshinsky IV, Zhanataev AK, Zakharova NS, Zorin SN, et al. (2008) Medical and biological safety assessment of genetically modified maize event MON 88017. Report 2. Genotoxicologic, immunologic and allergologic examinations. *Vopr Pitan* 77: 13-17 (in Russian).
- Van den Eede, G., Aarts, H., Buhk, 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.
- Wahl, G.M., de Saint Vincent, B.R. ve De Rose, M.L., 1984. Effect of chromosomal position on amplification of ransfected genes in animal cells, *Nature* 307: 516-520.
- 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.