

GIDA AMAÇLI KULLANILMAK ÜZERE İTHALATI İSTENEN GENETİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ MON810 MISIR ÇEŞİDİ VE ÜRÜNLERİ İÇİN BİLİMSEL RİSK DEĞERLENDİRME RAPORU

RAPORUN HAZIRLANIŞ GEREKÇESİ VE DAYANAKLARI:

Bu rapor, genetik olarak değiştirilmiş MON810 kodlu mısır çeşidinin doğrudan tüketimi dışında bu çeşitten üretilecek gıda amaçlı ürünlerin (örneğin; nişasta, dekstrin, glikoz, fruktoz şurubu, yağ, mısır özü proteinleri ve mısır gluteni v.b.) kullanımı için, 5977 sayılı Biyogüvenlik Kanunu ve ilgili yönetmelik uyarınca Biyogüvenlik Kurulunun 03.03.2011 tarih ve 6 nolu toplantı kararı ile oluşturulan ve bu doğrultuda görevlendirilen Bilimsel Risk Değerlendirme Komitesi tarafından hazırlanmıştır. Raporun hazırlanmasında, 5996 sayılı Veteriner Hizmetleri, Bitki Sağlığı, Gıda ve Yem Kanunu ve ilgili yönetmelikler, Biyogüvenlik Kanunu ve kanunun uygulanması ile ilgili yönetmelikler, Rio Bildirgesi, Cartagena Biyogüvenlik Protokolü ve ilgili AB direktifleri gibi ulusal ve uluslararası düzenlemeler dikkate alınmıştır.

Rapor hazırlanırken MON810 mısır çeşidi ile ilgili ithalatçı firma tarafından dosyada sunulan mevcut belgeler, risk değerlendirmesi yapan muhtelif kuruluşların (EFSA, WHO, FAO, FDA, OECD, EPA, EPPO) görüşleri ve bilimsel araştırmaların sonuçları ile farklı ülkelerde üretim ve tüketim durumları göz önünde bulundurulmuştur. Risk değerlendirmesi gen aktarım yöntemi, aktarılan genin moleküler karakterizasyonu ve ürettiği proteinin ifadesi, çeşidin muhtemel alerjik ve toksik etkileri ile çevreye olası riskleri dikkate alınarak yapılmıştır.

İTHALATÇI KURULUŞ:

Türkiye Gıda ve İçecek Sanayi Dernekleri Federasyonu İktisadi İşletmesi
Kısıklı Caddesi 1/7 Altunizade TR-34662 İstanbul

ÇEŞİDİ ÜRETEK KURULUŞ:

Monsanto Company
800 N. Lindbergh Boulevard, St.Louis,
Missouri 63167 USA

ÇEŞİDİN GELİŞTİRİLME AMACI VE ÜRETİMİ:

MON810 mısır çeşidi, *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* bakterisinin üretmekte olduğu Cry1 Ab böcek öldürücü proteinini sentezlemektedir. Bu protein, mısır kurdu (*Ostrinia nubilalis*) ve mısır koçan kurdu (*Sesamia nanogroides*) gibi lepidoptera takımından zararlı böcek türlerine karşı koruma sağlamaktadır. Bu zararlılardan Avrupa mısır kurdu olarak bilinen *Ostrinia nubilalis* ülkemiz dahil ABD, Kanada, Avrupa, Kuzey Afrika ülkeleri ve İran'da varlığı bilinmekte olup mısırın en önemli zararlıları içinde yer almaktadır (EPPO, 2011). Zararlı tüm mısır çeşitleri [tane, tatlı, patlak (popcorn) mısır] yanısıra başta pamuk, buğday, patates, biber olmak üzere 200 bitki türünde zarar yapabilmektedir. Mısırın bütün dönemlerinde zararlı olabilen larvalar özellikle mısırın tane bağlama döneminde yoğun bulaşmalar olduğunda önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Örneğin ABD' de adı geçen zararlının oluşturduğu tane kayıplarını önlemek için yılda 1.85 milyar dolar harcandığı, sadece tatlı mısırdaki 2006 yılında zararlıya karşı 274 ton insektisit kullanıldığı bilinmektedir (Puepke ve Nowierski, 2010). Mısır Koçan kurdu olarak bilinen *Sesamia nanogroides* Akdeniz ülkeleri ve Afrika'da mısır yetiştirilen alanlarda görülen mısır dışında sorgum, çeltik, şeker pancarı, darı ve yabancı buğdaygillerde zarar yapan önemli bir zararlıdır (Moyal ve ark., 2011). Koçan Kurdu zararı mısırın fenolojik devresine göre değişmekle birlikte yıllık kayıplar % 5-15 arasında değişmektedir (Brooks, 2002). Yapılan araştırmalar bu zararlıların mısırdaki kök boğazı, sap ve koçan çürüklüklerine neden olan *Fusarium* türleri ile yakın ilişkisi olduğunu göstermiştir. Bu hastalık etmenleri mısırdaki oluşturdukları ekonomik kayıpların dışında indirekt olarak özellikle mısır tanelerinde mikotoksin (fumonisin, deoxynivalenol vb.) kirliliğine de neden olmaktadır (Altıparmak, 2007).

Böceklerle mücadele yapılmadığı takdirde, patates, pamuk, buğday ve mısır gibi bitkilerin veriminde büyük ölçüde azalma meydana gelebilmektedir. Bundan dolayı bu bitkilerde zararlı böceklere karşı ilaçlama sayısı öngörülenin üzerine çıkabilmektedir. Yoğun bir ilaçlamaya rağmen, böcek zararının oluşturduğu ürün kayıpları %15-20 arasında değişebilmektedir. Zararlı böceklerle mücadelede kültürel ve biyolojik savaş yöntemleri kullanılsa da, en etkili ve yaygın olan yöntem kimyasal pestisit kullanımınıdır. Ancak, bitkinin kök, gövde ve meyvesi içerisinde gelişme gösteren ergin böcek ve larvalarına karşı insektisit kullanımı etkisiz olabilmektedir. Öte yandan, tarım ilaçları içerisinde insektisitler çevre, insan ve hayvan sağlığını en fazla tehdit eden grup olarak değerlendirilmekte olup, insanlar tarafından ilaçlama sırasında ve ürünlerle kalıntı şeklinde alındığında geri dönüşümü olmayan biyolojik ve genetik hasarlara yol açabilmektedirler. Yoğun insektisit kullanımı ekonomik kayıplara neden olduğu gibi; toprak ve su kaynaklarının kirlenmesine, arılar, toprak solucanları ve bitkisel üretim için gerekli olan faydalı böceklerle de zarar verebilmektedir. Ayrıca, zararlı böceklerin zamanla kullanılan insektisitlere karşı direnç kazanması sonucunda daha etkili ve toksik insektisitlerin kullanımı da giderek yaygınlaşmaktadır (Çakır ve Yamanel, 2005; Özcan, 2009). Klasik bitki ıslahıyla böceklerle dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi de belirli türlerle sınırlı kalmaktadır. Diğer taraftan, *Bacillus thuringiensis* (Bt) bakterisine ait delta-endotoksin proteinlerinin sentezinden sorumlu olan *cry* (kristal) genlerinin bitkilere aktarılmasıyla önemli zararlı böceklerle karşı dayanıklı kültür çeşitleri geliştirilebilmektedir. Dünyada 2010 yılında böceklerle dayanıklı (Bt) mısır üretimi 46 milyon hektara ulaşırken, Bt pamuk üretimi ise 21 milyon hektarı bulmuştur. En fazla Bt mısır üretimi ABD, Arjantin, Kanada ve Güney Afrika gibi ülkelerde gerçekleşirken, Hindistan başta olmak üzere ABD, Çin ve Pakistan en fazla Bt pamuk üreten ülkelerdir. Bt mısır ve pamuğun yaygın olarak üretildiği ülkelerde dolaylı olarak verimde %30'lara varan artış sağlanırken insektisit kullanımında da önemli azalmalar gözlenmektedir (Qaim 2009; Sadashivappa ve Qaim 2009). Dayanıklı Bt pamuk ve mısır çeşitleri sayesinde insektisit ve ilaçlama için harcanan yakıt maliyeti en aza indirilerek, verim artışıyla birlikte ürün kalitesinde de önemli gelişmeler gözlenmiştir (Özcan, 2011).

Böceklerle dayanıklı ve herbisitlere toleranslı GD bitkilerin 2010 yılındaki toplam ekim alanı 29 ülkede 148 milyon hektara ulaşmış ve 57 farklı ülkede de yem ve gıda olarak tüketime sunulmuştur (James, 2011). GD bitkilerin yarıya yakını ABD'de üretilmekte olup, bu ülkeyi sırasıyla Brezilya, Arjantin, Hindistan, Kanada, Çin, Paraguay ve Pakistan gibi ülkeler takip etmektedir. Üretimi yapılan en önemli GD bitki türleri ise herbisitlere dayanıklı soya ve kolza ile böceklerle dayanıklı mısır ve pamuktur. 2010 yılında ABD'de üretilen soyanın %91'i mısırın %85'i ve pamuğun %88'i GD çeşitlerden oluşmuştur.

RİSK ANALİZİ VE DEĞERLENDİRMESİ:

MON810 transgenik mısır çeşidi ve ürünlerine ait bilimsel risk analiz ve değerlendirmesi, bu çeşidin geliştirilmesinde kullanılan gen aktarım yöntemi, aktarılan genin moleküler karakterizasyonu ve ürettiği protein, besin değeri, olası alerjik, toksik etkileri ve çevreye gen kaçıışı ile oluşabilecek riskler dikkate alınarak yapılmıştır. Bu çeşitle ilgili bilimsel risk değerlendirilmesinde; çeşitle ilgili ithalatçı firma tarafından başvuru dosyalarında sunulan belgeler, risk değerlendirilmesi yapan kuruluşların (EFSA, WHO, FAO, FDA, OECD, EPA, EPPO) raporları, bilimsel araştırmaların sonuçları alerjik ve toksik etki analizleri, genetik değişimin kararlılığı, morfolojik ve agronomik özellikler, hedef dışı organizmalara etkileri ile farklı ülkelerde üretim ve tüketim durumları göz önünde bulundurulmuştur. MON810 mısır çeşidi ile yapılan hayvan besleme çalışmaları da incelenerek bu transgenik çeşidin yem olarak kullanımı sonucu ortaya çıkabilecek riskler değerlendirilmiştir. Ayrıca bu çeşide ait tohumların kaza ile doğaya yayılarak yetişmesi halinde ortaya çıkabilecek tarımsal ve çevresel riskler de dikkate alınmıştır.

1. Moleküler Karakterizasyon

1.1. Aktarılan genleri taşıyan vektörlerin yapısı ve gen aktarım yöntemi

Transgenik MON810 mısır çeşidi, PV-ZMBK07 ve PV-ZMGT10 plazmidlerinin bir arada partikül bombardıman yöntemi ile mısıra aktarılması sonucu oluşturulmuştur. PV-ZMBK07 plazmidini iki kez güçlendirilmiş CaMV35S promotör bölgesini (e35S); mısır ısı şok protein genine (*Hsp 70*) ait bir intronu, *Bacillus thuringiensis kurstaki*'ye ait *cry1Ab* böcek öldürücü toksin proteinini kodlayan geni, *Agrobacterium tumefaciens* orijinli NOS terminatör bölgesini, *lac* operon parçacığını, ori-pUC (pUC plazmidinin replikasyon orijini) ve seçici markör olarak *nptII* genini içermektedir.

PV-ZMGT10 plazmidini ise e35S promotörünü, *Hsp70* intronunu, *Arabidopsis thaliana* transit peptitler *CPT1* ve *CPT2*'yi, *Agrobacterium* türlerinden elde edilen ve glifosat herbisitine seçiciliği sağlayan *CP4 EPSPS* genini, glifosat metabolize eden enzimi kodlayan *gox* genini (*Ochrobactrum anthropi* sp.'den), nos 3' terminatör, *LacZ* bölgesini *ori-PUC* ve *nptII* genini içermektedir (EFSA, 2009).

1.2. Aktarılan genlerin moleküler yapı, ekspresyonu ve kararlılık analizleri

Moleküler analizler, MON 810'un yalnızca PV-ZMBK07 plazmidinden türetilmiş elementleri içerdiğini göstermektedir. Bu elementler, karnıbahar mozaik virüsüne ait e35S promotörü, mısır DNA'sına ait *Hsp70* intronu ve *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* bakterisine ait *cry1Ab* kodlayan sekans bölgesini içermektedir. Southern analizleri, PV-ZMBK07 plazmit DNA'sının belirtilen elementleri dışındaki bölümlerinin ve PV-ZMG10 plazmidine ait gen bölgelerinden hiçbirinin MON810 mısır çeşidinde bulunmadığını göstermiştir. Bu plazmidlerde bulunan *nptII* ve T-nos bölgelerinin de MON 810 bitki genomuna geçişinin gerçekleşmediği tespit edilmiştir (EFSA 2009).

1994 ve 1995 yıllarında ABD ve Fransa'da yapılan tarla denemelerinde farklı dokularda *Cry1Ab*, *CP4 EPSPS* ve *GOX* proteinlerinin miktarına bakılmıştır. Bitki DNA'sında *cp4 epsps* ve *gox* genleri bulunmadığından, farklı dokularda *CP4 EPSPS* ve *GOX* proteinlerine rastlanmamıştır. *Cry1Ab* protein miktarları ise genç yaprak dokuda 7.59-10.34 µg/g; tüm bitkide 3.65-9.23 µg/g ve hasat edilen tohumlarda 0.19-0.69 µg/g arasında değişmektedir. Ayrıca, GD MON810 mısır çeşidine aktarılan trans-genlerin moleküler ve genetik açıdan farklı çevresel koşullarda, farklı genotiplerde ve generasyonlar boyunca kararlı olduğu rapor edilmiştir. Adı geçen raporda transgenik DNA'nın aktarımı sonucu oluşan DNA uzantılarında potansiyel yan ürün riski bulunmadığı vurgulanmıştır (EFSA 2009). Biyoinformatik analizlerin değerlendirmelerine göre, aktarılan DNA'nın 5' ve 3' uçları ve genomik DNA'nın birleşim noktalarında kodlanan olası polipeptitlerin allerjik, toksik veya olumsuz biyoaktivitelerinin gözlenmediği ifade edilmiştir.

Hindistan Endüstriyel Toksikoloji Enstitüsü'nde MON810 mısır çeşidindeki yabancı DNA'nın varlığı çoklu PCR primerleri kullanılarak araştırılmış ve MON810 transgen kasetinde yapısal kararsızlığın olduğu saptanmıştır. MON810'daki *nptII*'nin olmadığı iddialarına karşın kendi inceledikleri örneklerde *nptII* ve *Tnos*'un varlığına değinmişlerdir (Singh ve ark., 2007). Ancak bu çalışma sadece transgenin belirlenmesine yönelik olup, *nptII* geninin ifade edildiğine ya da transgenin mobil özellik taşıdığına ait bir bulgu yoktur.

İtalya Floransa Üniversitesi'nde Rosati ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada; iki ticari MON810 mısır çeşidinde yabancı DNA'nın genomik DNA'ya bitişik olan 3' birleşim bölgesini izole ederek karakterize etmişler ve özel primerler ile 476 bp'lik bir bölgeyi çoğaltmışlardır. Bu bölgede oluşturulan RT-PCR analizinde farklı uzunlukta cDNA bölgeleri elde etmişler ve cDNA transkriptleri ile yapılan biyoinformatik analizler sonucunda farklı mısır çeşitlerinde 2 ve 18 olası amino asit eklentisi varlığını ortaya koymuşlardır. Sonuç olarak dizileri belirlenen bu rekombinant proteinlerin bilinen proteinler ile benzerlik göstermediklerini bildirmişlerdir.

Aguilera ve ark., (2008) MON 810 ticari çeşitlerinin genetik stabilitesini araştırdıkları denemelerde, MON810 özelliğinin 26 çeşitten 24'ünde genetik olarak stabil olduğunu ancak ARISTIS BT ve CGS4045 de stabil olmadığını saptamışlardır. La Paz ve ark. (2010)'in MON 810 ticari çeşitinin içerdiği transgenin ve onunla ilgili bölgelerin DNA yapısı southern analizleri ile incelenmiş ve çeşitin 10 yıl önce ilk transformasyonu sırasındaki özellikleri aynen taşıdığını ve herhangi bir yeniden düzenlenmenin olmadığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar sadece farklı transgenik mısır çeşitlerinde yaprakların farklı gelişme devrelerinde sitozin metilasyonu açısından farklılık olduğunu bildirmişlerdir.

Balsamo ve ark., (2011) yılında yaptıkları proteomik temelli çalışmada dört farklı MON810 çeşidi ve izogenik hatlarının protein profillerini karşılaştırmışlar ve iki transgenik mısır çeşidinde 12 farklı protein varlığını belirlemişlerdir. Ancak, aynı yayında bu proteinlerin GD mısırdan kaynaklı proteinler olmayıp varyete ve dokulara özgün olduğu ifade edilmiştir.

EFSA (2009) raporunda, aktarılan DNA parçacığının bütünlüğü ve kararlılığı teyit edilmiş, Aktarılan DNA'nın 3 nesil boyunca süren kararlılığı Southern Blot analizleri ile gösterilmiştir. Ayrıca Brants ve ark. (2010) MON 810'un kararsızlığını gösteren bir kanıt olmadığını belirtmişlerdir.

2. Kimyasal Bileşim ve Tarımsal Özelliklerin Risk Analizi

2.1. Kimyasal bileşim analizi

ABD'de 1994 yılında yapılan tarla denemeleri sonucu elde edilen mısır tanelerinde besin madde analizleri (nem, ham protein, ham yağ, enerji, karbonhidrat, ham selüloz ve ham kül) ve 44 farklı bileşen (amino asitler, yağ asitleri, nişasta, şeker, kalsiyum, fosfor, tokoferol ve fitik asit) analizi yapılmıştır. İncelenen 11 bileşenden, 8 amino asit, ham selüloz, kalsiyum ve β -tokoferol seviyeleri kontrol mısıra (MON818) göre MON810 mısırdan anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Ancak, bazı bileşenlerin konsantrasyonları MON810 mısır ve kontrol mısır hattı için, literatürde bildirilen aralıklar içinde bulunurken, histidin ve sistin düzeyi (MON810 mısır ve kontrolü) daha yüksek, kalsiyum düzeyleri ise literatürde rapor edilen seviyelerin altında saptanmıştır (EFSA 2009).

Fransa'da 1995 yılında yapılan tarla denemelerinde toplanan mısır tanelerinde 36 bileşen, mısır hasılında ise sadece temel besin maddeleri analizi yapılmıştır. MON810 mısır ve kontrol (MON820) mısıra ait veriler karşılaştırıldığında tanelerde istatistiksel olarak önemli düzeyde nem ve palmitik asit içeriği arttığı, metiyonin ve triptofan düzeylerinin azaldığı belirlenmiştir. Hasıl mısır da ise ham protein düzeyinde artış gözlenmiştir.

Bazı araştırmacılar Cry1Ab protein olarak ifade edilen mısır çeşitlerinde lignin seviyelerinde farklılıklar bildirmişlerdir (Saxena ve Stotzky, 2001b; Flores ve ark., 2005; Poerschmann ve ark., 2005). Bunu takiben yapılan araştırmalarda bu farklılıkların kimyasal analiz yönteminden kaynaklandığı (Hatfield ve ark., 1999; Jung ve Sheaffer, 2004), GD MON810 mısır ve genetiği değiştirilmemiş kontrol mısır için lignin kompozisyonu açısından hiçbir farkın olmadığı bildirilmiştir (Lehman ve ark., 2008; Tarkalson ve ark., 2008).

Mısırdan mikotoksin analizlerine yönelik çalışmalarda MON810 mısır tanesinde genetiği değiştirilmemiş kontrol mısıra göre daha düşük mikotoksin seviyeleri bulunduğu belirtilmektedir. Özellikle fumonisin ve aflatoksin düzeylerinin MON810 mısır çeşidinde önemli miktarda daha düşük olduğu pek çok araştırmacı tarafından doğrulanmıştır (Munkvold ve ark., 1999; Dowd, 2000; Magg ve ark., 2002, 2003; Schaafsma ve ark., 2002; Clements ve ark., 2003; Hammond, 2004, 2006; de la Campa ve ark., 2005; Papst ve ark., 2005; Rossi ve ark., 2005; Williams ve ark., 2005).

2.2. Tarımsal özelliklerin analizi

Genetiği değiştirilmiş (GD) ve genetiği değiştirilmemiş mısır çeşitleri arasındaki farkları, tüm özellikler bakımından ortaya koyabilmek için son yıllarda çok sayıda araştırma yapılmıştır.

GD mısır çeşitleri biyoteknolojik yöntemlerle amaca yönelik genlerin aktarılmasından sonra ticari çeşitle melezlenerek elde edildiği için sadece aktarılan gen yani böceklere dayanıklılık bakımından değişiklik içermektedir. 1994 yılından bu yana yapılan denemeler MON810 mısır çeşitinin önemli tarımsal özellikler (tohum ve çiçek morfolojisi, bitki boyu, vejetasyon süresi vb.) bakımından geleneksel mısır çeşitleri ile bir farklılığının olmadığını göstermiştir (EFSA, 2007).

3. Çevresel Risk Değerlendirmesi

Ülkemizde GD bitkilerin yetiştirilmesi kanunen yasak olduğundan çevresel risk değerlendirmeleri; MON810 mısır çeşidinin kullanımı dikkate alınarak gıda ve yem şeklinde tüketimi sonrası sindirim sisteminden başlayıp dışkı ve gübre şeklinde indirekt şekilde maruz kalma, GD ürününü taşıma, depolama ve işleme esnasında kazayla çevreye yayılma riskleri ile sınırlı tutulmuştur.

3.1. Genetik değişiklikten kaynaklanabilecek yayılma potansiyeli

Doğada bulunan bitkiler arasında en yüksek enerji stoğuna sahip olan mısır bitkisi Dünya'da 159 milyon hektar alanda ekilmekte ve yaklaşık 817 milyon ton tane üretimi yapılmaktadır. Ülkemizde 2009 yılı verilerine göre 592 bin hektar ekim alanında yaklaşık 4.2 milyon ton tane üretilmiştir. Dünya ortalaması olarak, üretilen mısırın yaklaşık %27'si insan beslenmesinde, %73'ü hayvan beslenmesinde kullanılmaktadır (FAO, 2009).

Mısır, yazlık bir sıcak iklim bitkisi olup, Türkiye koşullarında kışın tarımının yapılma şansı yoktur (Kırtok, 1998; OECD, 2003). Koçan üzerinden dökülen mısır tanelerinin toprağa karışması olasıdır. Ancak kış koşullarını atlatarak ilkbaharda çimlenip neslini devam ettirme şansı bulunmamaktadır. Bu nedenle koçan üzerinden dökülen mısır tanelerinin yaşamını sürdürmesi çok zordur ve uzun yıllar Türkiye'de yetiştirilmesine rağmen kültüre alınan alanlar dışında kendiliğinden gelişen mısır bitkisine rastlanmamaktadır. Ayrıca mısırın Türkiye'de tozlaşma potansiyeline sahip yabancı türleri bulunmamaktadır. GD mısır kültüre alınmadığı için de yerli çeşitlere polen akış riski yoktur.

MON810 mısır çeşidi kültüre alındığında, mısır koçan kurdu (*Ostrinia nubilalis*) larvalarına karşı böcek dayanıklılık geni içermesi zararlı popülasyonunun yoğun olduğu durumlarda mısır yetiştiriciliği için önemli bir avantaj sağlamaktadır. Ancak söz konusu mısır çeşidi böcek dayanıklılık geni dışında hastalıklara dayanıklılık, diğer kültür bitkileri ile rekabet, soğuk koşullarda yaşamını sürdürme, dormansi fazına sahip olmama gibi klasik mısır çeşitlerine göre farklı bir özellik içermemektedir. Bu durumda da mısır üretim alanları dışında kendiliğinden yetişerek yaşamını sürdürme şansı bulunmamaktadır.

Delos ve ark., (2006, 2007) de pek çok Avrupa ülkesinde kültüre alınmış olan MON810 mısır çeşidinin fenotipik karakteristikler ve çevre ilişkilerini hedef alan karşılaştırma denemelerinde GD olmayan mısırdan biyolojik açıdan önemli bir fark oluşturmadığı saptanmıştır. Tarla verileri MON810 mısır çeşidinin klasik mısır çeşitlerine göre aşırı bir yayılma, farklı bir gelişme ya da doğaya uyum özelliğinin bulunmadığını göstermiştir. Mevcut kaynaklar incelendiğinde söz konusu çeşidin doğada kalabilme, kışı geçirebilme gibi farklı bir özellik taşımasına yönelik herhangi bir bulguya da rastlanmamıştır (EFSA, 2009).

3.2. Gen transfer potansiyeli

Herhangi bir genin transfer olabilmesi; DNA'nın doğrudan horizontal transferi veya ilgili geni taşıyan tohumlardan oluşan bitkilerin tozlaşması ile vertikal gen transferi ile mümkün olmaktadır.

3.2.1. Bitkiden bitkiye gen transferi

Mısır yabancı döllenen bir bitkidir. Çiçeklenme periyodu boyunca bir mısır bitkisi 5 milyondan fazla polen üretebilmektedir (Kurt, 2011). Buna bağlı olarak bir bitkiden diğer bir bitkiye polen

geçışı, dolayısıyla gen akışı doğal bir süreçtir. Türkiyede GD mısırdan gen kaçıışı olasılığını sınırlandıran faktörler aşağıda özetlenmiştir:

- 1) GD ürün tarımının Türkiye’de kanunlarla yasaklanmış olması,
- 2) Türkiye’nin mısır bitkisinin gen merkezi olmaması,
- 3) Mısır tarımının sınırlı alanlarda yapılması,
- 4) Mısır tohumlarının dormansi göstermemesi,
- 5) Uygun koşullar altında çimlenip gelişebilmeleri,
- 6) Tohumların yenmesi ve yüksek nem içeriğinden dolayı özel muhafaza koşulları dışında kolayca çürümesidir.

Mısır, uygun koşullarda tarımsal ekosistem içerisinde canlılığını sürdürebilen bir türdür. İthal talep edilen MON810 mısır çeşidi sadece yem amaçlı olarak kullanılacaktır. Bununla birlikte kontrol edilemeyen faktörler (kaza, dikkatsizlik, kasıt vb.) ile çok az da olsa çevreye yayılma olasılığı vardır. Çevreye kazara dağılan GD mısır tohumlarından yetişen bitkilerdeki böcek dayanıklılık geninin varlığı zararlının (*Ostrinia nubilalis*) yoğun olduğu koşullarda bu bitkiler için bir avantaj gibi görünmektedir. Söz konusu GD mısırın genel karakteristikleri değişmediği ve kültüre alınmadığı sürece içerdiği genetik değişiklik seçici bir avantaj sağlamayacaktır. Bu nedenle diğer pek çok mısır çeşidinde olduğu gibi, GD mısır ülkemizde sadece ılıman iklimde sahip bölgelerde ertesi yıla kalabilme ihtimali taşımaktadır. Bu durumda da ülkemiz çevre koşullarında gelişerek önemli popülasyonlar oluşturma ihtimali mümkün görünmemektedir.

3.2.2. Bitkiden bakteriye gen transferi

EFSA (2004, 2007, 2009) ve Keese, (2008) verilerine göre doğal koşullarda GD bitkilerden mikroorganizmalara horizontal gen transferi hemen hemen imkansız görünmektedir. MON810 mısır çeşidi tohumlarının çevreye kazara dağılması durumunda bitkisel materyalin veya doğaya dağılan polenlerin toprakta çürümesi sonucu mikroorganizmalar transgenik DNA ile karşılaşabilecektir. Ayrıca GD mısırdan yapılmış gıda ve yemler de transgenik DNA içermektedir. Bu şekilde insan ve hayvanların sindirim sistemindeki mikroorganizmalar transgenik DNA ile karşılaşabilir.

MON810 mısır çeşidindeki *cry1Ab* geni, prokaryotik mikroorganizmalarda sınırlı bir aktiviteye sahip eukaryotik promotor tarafından kontrol edilmektedir. GD bitkilerde ifade edilen ve benzer özellikleri içeren prokaryotik düzenleyici elementlerin kontrolü altındaki genler doğadaki bakterilerde zaten yaygın olarak bulunmaktadır. Ayrıca seçici marker olarak kullanılan glifosata tolerant özelliği CP4 *epsps* ve *gox* genleri MON810 mısır genomunda bulunmamaktadır.

cry1Ab geninin yapısı ve orijini dikkate alındığında; çevre ve sindirim sistemindeki seleksiyon baskısının eksikliği bu genlerin diğer mikroorganizmalara farklı bir özellik katacak ya da uyumunu arttıracak şekilde horizontal olarak gen transferini son derece sınırlandırmaktadır. Bu nedenle söz konusu genlerin insan ve hayvan sindirim sistemindeki mikroorganizmalara transferi mümkün görülmemektedir. Çok az bir olasılıkla bu transfer gerçekleşmiş olsa bile insan ve hayvan sağlığı açısından olumsuz bir etki söz konusu olmayacaktır. Çünkü mevcut mikrobiyal komüniteye yeni bir özellik katmayacağı gibi mevcut mikroorganizmalara uyumu da son derece sınırlıdır (EFSA, 2009).

3.2.3. Hedef organizmalar ile etkileşim potansiyeli

MON810 mısır çeşidi mısırdan zararlı bazı lepidoptera larvalarına dayanıklılık sağlamak amacıyla geliştirilmiştir. MON810 mısır çeşidi ülkemizde yetiştirilmediği sürece, taşınma, depolama ve işleme sırasında kazara etrafa dağılması ve buradan popülasyonlar oluşturması, GD mısırla beslenen hayvanların dışkı ve gübreleri yoluyla ülkemizdeki hedef organizmaların popülasyonları üzerinde söz konusu proteinlere direnç riski yaratma olasılığı oldukça düşüktür.

3.2.4. Hedef olmayan organizmalar ile etkileşim potansiyeli

MON810 mısır çeşidindeki Cry1Ab proteinlerinin çevreye kazara dağılan tohumlardan oluşan bitkilerden veya hayvan dışkı ve gübreleri ile hedef olmayan organizmalarla karşılaşması olasıdır. Bu durumda cry proteinlerinin seçiciliği dikkate alınarak benzer taksonomik grup içinde yer alan hedef olmayan organizmaların etkilenmesi ihtimal dahilindedir (OECD, 2007). Özellikle Cry proteinlerinin çevreye dağılarak toprakta varlığı dikkate alındığında humik asit, kil ve organik madde-mineral kompleksine bağlanması sonucu bozunmadan kalabileceği düşünülebilir (OECD, 2007). Ancak bu konuda yapılan bir kaç çalışma topraktaki GD bitkilerde bulunan Cry proteinlerinin toprakta kalıcı olmadığı gibi herhangi bir birikimin de söz konusu olmayacağını göstermiştir (Ahmad ve ark.,2005; Baumgarte ve Tebbe, 2005; Dubelman ve ark., 2005; Head ve ark., 2002; Herman ve ark., 2001; 2002; Hopkins ve Gregorich, 2005; Krogh ve Griffiths, 2007). Son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda Cry1Ab proteininin GD mısır yetiştirilen alanlarda hasattan sonraki 6 ay boyunca bitki artıklarında bulunabildiği gösterilmiştir (Tank ve ark., 2010).

Sonuç olarak, MON810 mısır çeşidindeki Cry toksinlerinin çevrede mısır tanelerinin kazara dökülmesi veya hayvan dışkılarının çevreye dağılması sonrası suya veya toprağa karışan miktarın çok düşük olacağı ve lokal olarak kalacağı belirtilmektedir (EFSA, 2009). Bu koşullar altında da potansiyel olarak duyarlı olan hedef dışı organizmaların bu proteinlere maruz kalma olasılığı son derece düşük olacaktır.

4.Gıda Güvenliğinin Değerlendirilmesi

World Medical Association (WMA) tarafından geliştirilen Helsinki Deklarasyonu riskler tam olarak tanımlanmadan ve bu risklerle nasıl baş edileceği tam olarak anlaşılmadan insanda tıbbi araştırma yapılamayacağını ifade etmektedir. Ayrıca araştırmanın potansiyel sağlık yararı, sağlık risklerinin her zaman önünde olmalıdır. Bu nedenle GDO'larla ilgili yapılan deneysel çalışmaların tamamı hayvan deneyleri ile sınırlıdır. Hayvan deneylerinin bu alanda kullanımı ve sınırları EFSA tarafından da dile getirilmektedir. EFSA'ya göre insanda meydana gelebilecek etkileri saptamada kullanılacak uygun bir hayvan modelinin henüz bulunmadığı bildirilmiştir. Bu nedenle hayvan deneyleri açısından birden fazla türün kullanılması önerilmektedir. Böylelikle türlerdeki metabolik farklılıklar nedeni ile maskelenen etkiler açığa çıkabilecektir. Ayrıca araştırmacılar, riski değerlendirirken, olası tüm zararlı etkileri tahmin ederek başlamadıkları için, etkiyi yaratacak "uygun dozu" belki de hiç uygulamıyor olabilirler (Ergin ve Karababa, 2011). Bu durumun önemli bir sorun olarak tanımlanması nedeniyle risk değerlendirmesi MON810 mısırla beslenen laboratuvar hayvanları ile et, süt ve yumurta üretiminde kullanılan hayvanlarla yapılan çalışmalar dikkate alınarak yapılmıştır.

4.1. İşlemenin etkisi

MON810 mısırdan türeyen işlenmiş ürün özelliklerinin GD olmayan mısır ürünlerinden farklı olmadığı bildirilmektedir (EFSA, 2009). MON810 mısırının işlenmesi sırasında içerdiği Cry1Ab proteininin nasıl etkilendiği ile ilgili olarak Dien ve ark. (2002) tarafından yapılan çalışmada, etanol üretimi sırasında kuru ve yaş öğütülmüş MON810 mısırında Cry1Ab proteini izlenmiştir. Yaş öğütmeden sonra Cry1Ab proteini embriyo, gluten ve lif kısımlarında bulunmuş, buna karşın kuru öğütme sırasında ise yüksek ısıdan dolayı proteinin denatüre olduğu görülmüştür.

4.2.Toksikolojik değerlendirmeler

MON810 mısırındaki Cry1Ab proteini düşük miktarda sentezlenmesi nedeniyle güvenlik testleri için yeterli miktarda saflaştırılamamıştır. Bu nedenle güvenlik testlerinde; MON810 tarafından üretilen Cry1Ab proteini ile aynı yapısal özelliklere sahip olan ancak rekombinant *Escherichia coli* suşundan üretilerek elde edilen protein kullanılmıştır.

Bu konuda yapılan *in vitro* ve *in vivo* deneylerde; hem *B.thuringiensis*'te sentezlenen Cry1Ab proteininin, hem de bitkide sentezlenen Cry1Ab proteininin oldukça seçici olduğu ve özellikle memeli organizmalarda olumsuz bir etkiye neden olmadığı sonucuna varılmıştır (Wolfersberger, 1992; Wieczorek ve ark., 1999; Griffiths ve Aroian, 2005; Shimada ve ark., 2006a,b; Stumpff ve ark., 2007; Bondzio ve ark., 2008).

4.2.1. İfade edilen yeni proteinlerin toksikolojik yönden değerlendirilmesi

E.coli den üretilen Cry1Ab proteini kullanılarak farelerde yapılan tek doz (4000 mg/kg canlı ağırlık) akut oral toksisite testinde herhangi bir sistemik toksisite belirtisi görülmemiştir (EFSA, 2009).

Onose ve ark (2008) tarafından yapılan bir çalışmada, *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* (HD-1 suşu)'den elde edilen Cry1Ab proteininin sıçanlardaki etkisi araştırılmıştır. Kimyasal olarak mide-bağırsak hasarı oluşturulmuş sıçanlar ile mide hasarı oluşturulmamış sıçanlara 28 gün boyunca ağızdan verilen Cry1Ab proteininin herhangi bir olumsuz etkiye neden olmadığı belirtilmiştir.

E.coli'den elde edilen Cry1Ab proteini, pepsin içeren yapay mide sıvısında 2 dk içinde parçalanmış, ancak tripsin içeren yapay bağırsak sıvısında 19.5 saat içinde dahi etkilenmediği belirtilmiştir (EFSA, 2009).

Okunuki ve ark (2002) tarafından yapılan başka bir çalışmada, yapay mide sıvısında *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* (HD-1 suşu)'den elde edilen Cry1Ab proteininin 60 saniye içinde, MON810 mısırdan elde edilen aynı proteinin ise 120 saniye içinde parçalandığı bildirilmiştir. Yapay bağırsak sıvısında ise bakteriden elde edilen Cry1Ab proteini 240 dakikada parçalanırken mısırdan elde edilen proteinin bu süre içinde yalnızca %20'sinin parçalandığı belirtilmiştir. Araştırmacılar proteinlerin ısıtılmasının parçalanmayı artırdığını bildirmişlerdir.

Jennings ve ark. (2003) 42 gün boyunca %50-60 oranında MON810 mısır içeren bir yemle beslenen etlik piliçlerin göğüs dokularında Cry1Ab proteinini veya *cry1Ab* geninin parçalarını belirleyememişlerdir. Rossi ve ark. (2005) da etlik piliçler ile yaptıkları çalışmalarda, MON810 mısır ile beslenen grupların hem kursak hem de taşlıklarında *cry1Ab* geninin parçalarını tespit ettiklerini ancak dokularında tespit edemediklerini bildirmişlerdir.

Nemeth ve ark. (2004), MON810 mısırla beslenen besi danası, etlik piliç ve domuzlardan alınan kas örneklerinde *cry1Ab* gen kalıntısına rastlamamışlardır. Paul ve ark. (2008), %70 oranında MON810 mısır içeren yemle 1 veya 2 ay beslenen ineklerin plazma örneklerinde Cry1Ab proteinini belirleyememişlerdir. Mazza ve ark. (2005), %50 oranında MON810 mısır içeren yemle 35 gün beslenen domuzların kan, dalak, karaciğer, böbrek ve kas dokularında *cry1Ab* geninin varlığını saptayamamışlardır. Paul ve ark. (2010) diğer bir çalışmada, MON810 mısır içeren yemle 25 ay boyunca beslenen ineklerin dışkı örnekleri ile rumen, abomazum, ince bağırsak, kalın bağırsak ve sekum içeriğinde yemde bulunan proteinin yaklaşık %44'ünün parçalandığını ve Cry1Ab proteininin yıkıldığını bildirmişlerdir.

MON810 mısırdan ifade edilen Cry1Ab proteininin, toksik veya alerjen olduğu bilinen proteinlerin amino asit dizilişi ile arasında bir benzerlik bulunmadığı belirtilmiştir (EFSA, 2009).

MON810 mısır çeşidini içeren yemle beslenme sonucu oluşabilecek toksikolojik etkilerin belirlenmesi için Adel-Patient ve ark. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada farelere verilen Cry1Ab proteininin immun yanıtları etkilemeyeceği sonucuna varılmıştır. Kadlec ve ark (2009) tarafından yapılan bir çalışmada 42 gün boyunca MON810 mısır içeren yemle beslenen etlik piliçlerde hematolojik ve biyokimyasal parametreler ile kesim ağırlıkları, canlı ağırlık artışı, ölüm oranı yönünden bir olumsuzluk tespit edilmediği bildirilmiştir. Rehout ve ark (2009), MON810 mısır içeren yemle 42 gün boyunca besledikleri ROSS 308 ırkı etlik

piliçlerde kesim ağırlıkları, biyokimyasal ve hematolojik parametrelerde hiçbir olumsuzluk tespit etmediklerini bildirmişlerdir. Guertler ve ark (2010) tarafından yapılan diğer çalışmada MON810 içeren yem, 25 ay boyunca süt ineklerine yedirilmiş, ancak ineklerin süt kalitelerinde bir değişiklik saptanmadığı gibi genetiği değiştirilmiş gen kalıntısına da rastlanılmamıştır. İtalya'da 2006 yılında yapılan bir araştırmada ise marketlerden elde edilen süt örneklerinde genetiği değiştirilmiş yemlere ait DNA tespit edildiği ve pastörizasyon işleminin transgenik DNA'yı yıkımlayamadığı da bildirilmiştir. Ancak araştırmacılar, sütteki bu DNA'nın kaynağını tam olarak belirleyemediklerini, DNA'nın potansiyel kaynağının çevrede bulunan toprak bakterileri olabileceğini rapor etmişlerdir (Agodi ve ark., 2006).

Walsh ve ark. (2011), süttten kesilmiş domuzlarda MON810 ile kısa süreli beslenmenin immün cevap ve büyüme üzerine etkisini ve transgenik DNA ve proteinin hayvanlar üzerindeki etkilerini belirlemek üzere araştırmalar yapmışlardır. Domuzlar içerisinde %38.9 oranında GD içeren ve hiç GD içermeyen izogenik mısır hatlarından oluşan bir yem ile 31 gün süre beslenmişlerdir. Bu sürenin sonunda, GD mısır ile beslenmiş domuzlarda periferik mononükleer kan hücrelerinden IL-12 ve IFN γ üretimini arttırdığı gözlenmiştir. GD mısır ile beslenmiş domuzların plazmalarında Cry1Ab-özgü IgG ve IgA gözlenmezken, *cry1Ab* gen ve protein sadece gastrointestinal içerikte görülmüş buna karşın böbrek, karaciğer, dalak, kas, kalp ve kanda bulunmamıştır. GD mısır ile beslenmenin domuzlarda büyüme ve vücut ağırlığı üzerine bir etkisi bulunmamıştır. Ayrıca, GD mısır ile beslenmeye cevap olarak izole edilmiş dalak hücrelerinde IL-6 ve IL-4 üretimi artarken dalakta CD4⁺T oranının azaldığı gözlenmiştir. GD mısır ile beslenmiş domuzlarda ayrıca, ince bağırsakta B hücreleri ve makrofajların oranları azalırken CD4⁺T oranı artmıştır. Buna ek olarak, GD mısır ile beslenmeye karşı intraepitelyal ve lamina propria lenfositlerinden izole edilen IL-8 ve IL-4 üretimi de artmıştır. Sonuç olarak, *cry1Ab* gen veya proteinin süttten kesilmiş domuzların kan ve organlarına translokasyonunu (aktarımı) gösteren bir kanıtın mevcut olmadığı belirtilmiştir. Domuzların büyümelerinin GD mısır içeren beslenmeden etkilenmediği ifade edilmiştir.

Walsh ve ark (2012), 32 adet süttten kesilmiş 28 günlük erkek domuz kullanarak yaptıkları 31 günlük besleme denemelerinde; rastgele 2 gruba ayrılan domuzlardan, bir grubu genetiği değiştirilmemiş mısır (Pioneer PR34N43), diğer grubu genetiği değiştirilmiş mısır (Pioneer PR34N44'ten elde edilen MON810) içeren yemle beslenmişlerdir. Çalışmada yemler pelet şeklinde hazırlanmış olup, yemlerin içeriğinin ve kimyasal yapısının aynı olmasına dikkat edilmiştir (her rasyondaki mısır içeriği %38.88 oranında). Ayrıca yemlerin mikotoksin oranlarının Avrupa Birliği mevzuatında belirtilen maksimum kabul edilebilir düzeylerin altında olduğu ve pestisit kalıntıları yönünden de temiz olduğu belirtilmiştir. Domuzlar hayvan refahına uygun olarak barındırılmış ve domuzların çevresel değişikliklerden uzak tutularak, yem tüketimi ile ilgili olarak 0, 7, 14, 21, 28 ve 31. günlerde bireysel vücut ağırlıkları saptanmıştır. Bu çalışmada yapılan değerlendirmeler sonunda domuzların kalp, karaciğer ve dalak ağırlıklarında gruplar arasında önemli bir fark tespit edilmemiştir. MON810 mısır tüketen domuzların böbrek ağırlıklarında önemli bir artış olduğu belirlenmiş ancak gerek böbrek ve gerekse muayene edilen diğer organlarda herhangi bir histopatolojik değişiklik görülmemiştir. Ayrıca kanda yapılan biyokimyasal analizlerde böbrek ve karaciğer fonksiyonlarının etkilenmediği belirlenmiştir. Aynı çalışmada nisbi böbrek ağırlıklarında da istatistiksel bir fark bulunmamıştır. Araştırmacılar böbreklere yönelik toksisiteden söz edilebilmesi için plazma üre konsantrasyonunun artması gerektiğini ancak plazmadaki üre konsantrasyonunun değişmediğini bu nedenle daha uzun süreli besleme çalışmaları ile araştırmalarını sürdürdüklerini beyan etmişlerdir.

Vendomois ve ark. (2009) erkek ve dişi Sprague-Dawley ırkı sıçanlarda (4-6 haftalık) 3 farklı genetiği değiştirilmiş ticari mısır çeşidi (NK 603, MON810 ve MON863), ve genetiği değiştirilmemiş isogenik eşdeğerleri ile 5 ve 14 haftalık besleme sonrasında idrar ve serum değerlerini almış ve organ başına yaklaşık 60 farklı biyokimyasal parametre incelemişlerdir. Denemeler sonunda yapılan analizler bu 3 GD mısır çeşidinin tüketiminin, cinsiyet ve doza bağlı olarak yan etkileri olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, üç farklı GD mısır çeşidinde

farklılıklar olmakla birlikte olumsuz etkilerin temel detoksifikasyon organlarından karaciğer ve böbrek üzerine olduğunu ve bunların dışında ise kalp, adrenal bezler, dalak ve hematopoietik sistemin de etkilendiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar özellikle bu 3 mısır çeşiti ile 2 yıllık uzun süreli besleme denemeleri yapılması gerektiğini ve bu denemelerde özellikle böbrek ve karaciğer üzerinde yoğunlaşılması gerektiğini bildirmişlerdir.

Sagstad ve ark. (2007) GD mısırla beslenen balıkların bağırsaklarındaki SOD ve CAT enziminin artışını, MON810 mısırdaki delta endotoksinin varlığına bağlamışlardır. Başka çalışmaların sonuçlarıyla destekledikleri iddialarında sindirim kanalının yabancı DNA ve proteinlerle ilk temas yeri ve giriş yolu olması nedeniyle olası stres yanıtlarının ilk burada görüleceğini ifade etmişlerdir.

Finamore ve ark. (2008) MON810 ve GD olmayan eşdeğeri mısırları tüketen korunmasız (yeni süttten kesilen 21 günlük) ve 18-19 aylık yaşlı farelerde (erkek Balb/c) bağırsak ve çevresel immun yanıtları değerlendirmişlerdir. Deneyin sonunda gruplar arasında ortalama vücut ağırlığı ve yem tüketimi açısından, ayrıca dalaktaki lenfositlerin proliferasyonunda farklılık görülmediği bildirilmiştir. Ancak kontrol grubuyla karşılaştırıldığında MON810 mısırla beslenen farelerin bağırsak ve çevresel kısımlarında T ve B hücreleri ile bazı diğer hücrelerin oranında farklılıklar bulunduğu, ayrıca serum sitokin düzeylerinin de arttığı belirtilmiştir. Bu değişimlerin en çok, GD mısırla 30 gün beslenen süttten kesilmiş farelerde bulunduğu, 90 gün beslenenlerde yalnızca B hücrelerinin artış gösterdiği kaydedilmiştir. Yaşlı farelerde görülen değişikliklerin ise 30 gün beslenen farelerde görülen değişikliklerle aynı olduğu saptanmıştır. Araştırmacılar bu sonuçların çok genç ve yaşlı farelerin immunolojik bozulmaya daha duyarlı olduğunu gösterdiğini, farelerin 111 günlük olana kadar (90 günlük besleme+21 günlük yaş) kazandıkları dirençle birlikte bozukluğun azaldığını ifade etmişlerdir. Elde edilen değişikliklerin bağırsaklık sisteminin önemli bir şekilde bozulduğuna kanıt olması için daha ileri araştırmaların yapılmasını, GD bitki ve ürünlerin toksikolojik değerlendirmelerinde bağırsak ve çevresel bağırsaklık yanıtının değerlendirilmesi gerektiğini ifade etmişlerdir. Ancak araştırmacıların materyal ve metodunda belirttikleri mikotoksin (özellikle FB1 ve DON) miktarları gerek MON810 gerekse genetiği değiştirilmemiş eşdeğerinde kabul edilebilir seviyenin üzerinde olduğu dikkati çekmiştir. Bu nedenle söz konusu olumsuz etkilerin mikotoksin kontaminasyonundan mı yoksa transgenik mısırdan mı kaynaklandığı net bir şekilde ortaya konamamıştır. .

Adel-Patient ve ark., (2011)'nin yaptıkları bir çalışmada fareleri (Balb/c) saf Cry1Ab proteini, MON810 ve genetik olarak değiştirilmemiş eşdeğeri ile intra peritoneal ve intra gastrik yolla immunize etmişler, proteinlerin immunolojik ve metabolik etkilerini araştırmışlardır. Değerlendirmeler sonunda intragastrik uygulamada MON810'un GD olmayan eşdeğerine göre çok az farklılık gösterdiği, ancak immun cevap konusunda proteinler arasında bir farklılık görülmediği sonucuna varmışlardır.

Ülkemizde Kılıç ve Akay (2008) tarafından yapılan bir çalışmada 18 dişi, 9 erkek Wistar albino sıçanlarda 3 nesil boyunca sürdürülen besleme denemeleri sonrası histopatolojik incelemeler ve biyokimyasal analizler yapılarak Bt mısırın etkileri araştırılmıştır. Hayvanlar tesadüfe göre 6 dişi ve 3 erkek olmak üzere 3 gruba ayrılmış ve I. Gruba standart diyet, II. Gruba standart diyet + % 20 oranında GD olmayan mısır, III Gruba standart diyet + % 20 oranında Bt mısır içeren diyet uygulanmıştır. Yapılan denemelerde her üç grupta da 3 nesil boyunca yeni doğanlarda fenotipik açıdan olumsuz bir etkiye rastlanmamıştır. Bütün gruplarda sıçanların vücut ağırlıklarında farklılık görülmemiş, ancak grup II ve III de dişi sıçanların nisbi karaciğer ağırlıklarında ve grup II dişi sıçanların nisbi böbrek ağırlıklarında azalma saptanmıştır. Ayrıca grup II erkek sıçanların nisbi böbrek ağırlıklarında istatistiksel olarak önemli azalma belirlenmiştir. Histopatolojik incelemeler ve biyokimyasal analizler değerlendirildiğinde, Bt mısır ile beslenen sıçanların sindirim kanalı, karaciğer ve böbrek dokularında histopatolojik açıdan çok önemli değişikliklere rastlanmamış, ancak kısa süreli besleme çalışmaları ile kıyaslandığında karaciğer ve böbrek dokularında ve serum enzim

seviyelerinde bazı farklılıklar tespit edildiği bildirilmiştir. Araştırmacılar Bt mısır ile beslenen sığırcılarda histopatolojik ve biyokimyasal açıdan düşük düzeyde farklılıkların olduğunu, bunun 3 nesil boyunca sığırcılarda olumsuz bir etkiye neden olmadığını, ancak farklı hayvan türleri ile uzun süreli besleme denemeleri sonrası gelişen teknolojiye paralel olarak yeni yöntemler ile araştırmaların yapılması gerektiği sonucuna varmışlardır.

Chelsea ve ark (2011) GD bitkileri ile yapılan uzun süreli ve generasyonları içeren besleme denemelerini değerlendirdikleri derlemelerinde 12 adet çok yıllık (en az 2 yıllık) ve 12 adet çok sayıda generasyonu (2 veya 5) kapsayan çalışmaları değerlendirmişlerdir. İçinde Cry1Ab proteini taşıyan mısır ve çeltiğin de yer aldığı derlemelerinde yem tüketimi, vücut ağırlığı, organ ağırlıkları, kan sayımları, kan ve idrar biyokimyasal analizleri ve histopatolojik açıdan değerlendirmeler yapılmıştır. 24 çalışmada elde edilen verilere göre incelenen parametrelerde küçük farklılıkların bulunduğu ancak bunların kabul edilebilir sınırlar içinde kaldığı, toksikolojik ve biyolojik açıdan önemli olmadığı, mevcut verilere göre bu GD bitkilerinin ürünlerinin gıda ve yem olarak kullanıldığında GD olmayan eşdeğerinden farklı olmadığı sonucuna varmıştır.

Son yıllarda yapılan bir çalışmada, doğal *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-1 suşundan klonlanan Cry1Ab proteininin 100 ppm gibi çok yüksek dozlarda ve pestisitlerin varlığında sitotoksik etkilerinin olabileceği ileri sürülmüştür (Mesnage ve ark., 2012). Yapılan değerlendirmede bu kadar yüksek dozda protein içeren yemin tüketilmesi olanaksızdır. Ayrıca *E. coli*'de üretilmiş olan Cry1Ab proteini tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de ruhsatlı olan ve ekolojik tarımda kullanılması önerilen *Bacillus thuringiensis* biyopreparatlarının içeriğinde de mevcuttur.

4.2.2. Allerjenite

4.2.2.1. Yeni ifade edilen proteinlerin allerjenitesinin değerlendirilmesi

Toprak mikroorganizması olan *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*'den köken alan *cry1Ab* geninin oluşturduğu proteinin allerjenik olmadığı iddia edilmektedir. Cry1Ab proteini biyoinformatik analizlerle incelenmiş ve bilinen allerjen proteinlerle homolojisi bulunmamıştır. Ayrıca Cry1Ab proteini asidik şartlarda kararlı değildir ve yapay mide şartlarında hızla parçalandığından allerjik olmadığı sonucuna varılmıştır (EFSA 2009).

4.2.2.2. MON810' un allerjenitesinin değerlendirilmesi

Nakajima ve ark (2007), gıda alerjisine sahip Japonlarda MON810 mısırında ifade edilen Cry1Ab proteinine özel IgE antikorlarının oluştuğunu kaydetmişlerse de bunun önemli olmadığını bildirmişlerdir. Batista ve ark. (2005), astım hastası bireyler ile gıda ve solunum alerjisi olan çocuklarda MON810 mısırının ekstraktlarıyla yapılan deri alerji testlerinde önemli bir allerjik durumun olmadığını belirtmişlerdir.

4.3. MON810 mısırın beslenme ile ilgili değerlendirilmesi

Custodio ve ark (2006) Bt11 mısır tüketen domuzlarda (baştan sona, yani 17 kg canlı ağırlıktan 120 kg canlı ağırlığa varana kadar sürekli tüketenlerde) ortalama günlük yem tüketiminde artış belirlerken 60 kg'dan sonra yapılan beslemede (120 kg olana kadar) bu değişikliğin olmadığını belirtmişlerdir. Yine benzer bir çalışmada MON810 mısır tüketen domuzların ortalama canlı ağırlık kazancında artış olduğu bildirilmiştir (Piva ve ark., 2001). Ancak açıklanan son 2 araştırmada bu artışın GD mısırlardaki daha düşük fumonisin B varlığından kaynaklandığını göstermiştir.

Bakke-McKellep ve ark. (2008), somon balıklarında yaptıkları bir çalışmada, MON810 mısır çeşidi içeren yem ile beslemede, histolojik, sindirimle ilgili, metabolik ve immunolojik parametreleri incelemişlerdir. Bu parametreler açısından MON810 mısır çeşidinin genetiği değiştirilmemiş eş değeri kadar somon balıklarının beslenmesinde güvenli bir biçimde kullanılabileceği yargısına varmışlardır.

Lucas ve ark.(2007), etlik piliçlerde yaptıkları çalışma sonucunda, MON810 mısır çeşidi içeren rasyonla beslenen gruplarda, genetiği değiştirilmemiş mısır içeren rasyonlarla beslenen gruba yem tüketimi, canlı ağırlık artışı, ölüm oranı ve kesim özellikleri açısından benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.

Rossi ve ark. (2011), domuzlarda yaptıkları çalışmada canlı ağırlık, yem tüketimi ve yemden yararlanma oranları bakımından MON810 mısır çeşidi içeren rasyonla beslenen gruplar, genetiği değiştirilmemiş mısır içeren rasyonlarla beslenen grup ile karşılaştırıldığında önemli farklar tespit etmemişlerdir.

Donkin ve ark. (2003) iki yıl üst üste MON810 ekilen tarladan elde edilen ürünlerden hazırladıkları silaj ile süt ineklerini beslenmişlerdir. Çalışma sonunda MON810 mısır çeşidinin, genetiği değiştirilmemiş eş değerine göre yem tüketimi, süt yağ oranı, süt verimi ve kompozisyonunu önemli düzeyde etkilemediği ve rumen sindiriminde de benzer değerler elde edildiği rapor edilmiştir.

Steinke ve ark. (2010), süt ineklerinde yaptıkları çalışma sonunda, MON810 mısır çeşidinin genetiği değiştirilmemiş eş değerine göre kimyasal kompozisyon, protein ve yem tüketimi, süt kompozisyonu ve vücut kondüsyonu üzerine önemli bir etki yapmadığı göstermişlerdir.

GENEL SONUÇ ve ÖNERİLER

Bilimsel Komite, MON810 mısır çeşidi ve ürünlerinin gıda ve gıda katkı maddesi olarak kullanım amacıyla ithal edilmesinin risklerini değerlendirmiştir. MON810 mısır çeşidine biyoteknolojik yöntemlerle aktarılan genlerin yapısı, DNA dizilimi, promotör ve terminatör bölgeleri, ekstra DNA dizileri ve gen aktarım yöntemi ayrıntılı olarak incelenmiştir. Bu çeşitle ilgili başvuru dosyasında yer alan dokümanlar, risk değerlendirilmesi yapan çeşitli kuruluşların görüşleri (EFSA, WHO, FAO, FDA, OECD, EPPO) ve bilimsel araştırmaların sonuçları ile farklı ülkelerde üretim ve tüketim durumları göz önünde bulundurulmuştur. Bu GD çeşitle yapılan hayvan besleme çalışmaları da incelenerek gıda olarak kullanımı sonucu ortaya çıkabilecek riskler değerlendirilmiştir. Ek olarak bu mısır çeşidinin ülkemizde kazayla yayılması durumunda oluşabilecek tarımsal ve çevresel riskler de göz önünde bulundurulmuştur.

Bilimsel Risk Değerlendirme Komitesi 27.03.2012 tarihinde Biyogüvenlik Kurulu Başkanlığı'na ilettiği yazıyla MON810 mısır çeşidini üreten firma tarafından yaptırılan ve EFSA'ya da sunulan bilimsel çalışmalara ait dökümanları istemiştir. Söz konusu dökümanlar temin edilemediği için Komite konuya ilişkin görüş oluşturmakta güçlükle karşılaşmıştır.

Komite, raporda belirtilen mevcut bilimsel doküman ve veriler ışığında yapılan değerlendirmelere dayanarak, MON810 mısır çeşidinin doğrudan gıda amaçlı kullanımının ve işleme sırasında oluşan yan ürünlerin (kepek, mısır özü ve küspesi ve bunun gibi) gıda amaçlı kullanımının geleneksel mısır çeşitlerinden daha fazla **risk taşıyabileceği görüşüne oy birliği ile varmıştır.**

Ancak doğrudan tüketimi dışında MON810 mısır çeşidinden üretilecek olan yüksek oranda rafine edilmiş doğal ve modifiye nişasta, dekstrin, glikoz, fruktoz ve fruktoz şurubu ve mısır özü yağının gıda amaçlı kullanımının geleneksel mısır çeşitlerinden daha fazla **risk taşıyabileceği görüşüne oy çokluğu ile varmıştır.**

Risk Yönetimine İlişkin Komite Görüşleri

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 kurumlar, biyoteknoloji şirketlerini kapsamlı saha ve güvenlik araştırmalarına yönlendiren mevzuat düzenlemeleri yapmaktadırlar. Bu çerçevede oluşturulan kararlara göre;

- 1) Tarımsal ürünler ve hayvan yemleri 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.

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. MON810 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 planında dikkat edilmesi gereken hususlar aşağıda belirtilmektedir;

1. MON810 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 (**EuropaBio 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 ilgili Bakanlığa sunacaktır. Doğrulan bir olumsuz etki durumunda ithalatçı firma, ilgili Bakanlık birimlerini bilgilendirmek zorundadır.
5. Genetiği değiştirilmiş bitkilerin ülkemizde yetiştirilmesi 5977 sayılı kanun kapsamında yasak olmakla birlikte, ithal edilmesi düşünülen MON810 mısır çeşidi tanelerinin taşınma, depolama ve işleme gibi süreçler sırasında amaç dışı çevreye dağılması ve olası kaçak ekimler nedeniyle gen kaçıışı riskinin olabileceği göz önünde bulundurulmalı, bu nedenle ithaline izin verilmesi durumunda yetkili kuruluşlar tarafından izlenmelidir.

KAYNAKLAR

- Adel-Patient K, Guimaraes VD, Paris A, Drumare M-F, Ah-Leung S, Lamourette, P., Nevers, M.C., Canlet, C., Molina, J., Bernard, H., Creminon, C. and Wal, J.M.** (2011). Immunological and Metabolomic Impacts of Administration of Cry1Ab Protein and MON 810 Maize in Mouse. *PLoS ONE* 6(1): e16346. doi:10.1371/journal.pone.0016346.
- Agodi, A., Barchitta, M., Grillo, A., Sciacca, S.** (2006). Detection of genetically modified DNA sequences in milk from The Italian market. *Int. J. Hyg. Environ. Health*, 209: 81-88.
- Aguilera, M., Querci, M., Balla, B., Prospero, A., Ermolli, M. and Van den Eede, G.** (2008). A qualitative approach for the assessment of the genetic stability of the MON 810 trait in commercial seed maize varieties, *Food Analytical Methods*, 1: 252-258.
- Ahmad, A., Wilde G.,E., Zhu K., Y.** (2005). Detectability of Coleopteran-specific Cry 3Bb1 protein in soil and its effect on nontarget surface and below-ground arthropods. *Environ. Entomol.*, 34: 385-394.
- Altıparmak, G.,** (2007). Samsun ili mısır ekim alanlarında Koçan Çürüklüğüne neden olan *Fusarium* spp'nin saptanması, fumonisin B1, Fumonisin B2 ve deoxynivalenol düzeylerinin belirlenmesi. 19 Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 88p.
- Bakke-McKellep, A.M., Sanden, M., Danieli, A., Acierno, R., Hemre, G., Maffia , M., Krogdahl, A.** (2008). Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr fed genetically modified soybeans and maize: Histological, digestive, metabolic, and immunological investigations. *Research in Veterinary Science*, 84: 395–408
- Balsamo, G.M., Cangahuala-Inocente, G.C., Jean B. Bertoldo J.B., Terenzi, H., Arisi, A.C.M.** (2011). Proteomic Analysis of Four Brazilian MON810 Maize Varieties and Their Four Non-Genetically-Modified Isogenic Varieties. *J. Agric. Food Chem*, DOI: 10.1021/jf202635r.
- Batista, R., Nunes, B., Carmo, M., Cardoso, C., José, H.S., de Almeida, A.B., Manique, A., Bento, L., Ricardo, C.P., Oliveira, M.M.** (2005). Lack of detectable allergenicity of transgenic maize and soya samples. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 116: 403-410.
- Baumgarte, S., Tebbe, C.C.** (2005). Field studies on the environmental fate of the Cry1AB Bt toxin produced by transgenic maize (MON810) and its effect on bacterial communities in the maize rhizosphere. *Mol. Ecol.*, 14: 2539-2551.
- Bondzio, A., Stumpff, F., Schön, J., Martens, H., Einspanier, R.** (2008). Impact of *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ab on rumen epithelial cells (REC) – A new in vitro model for safety assessment of recombinant food compounds. *Food and Chemical Toxicology*, 46:1976-1984.
- Brants I., Tahar, S.B., Salva, I.** (2010). Commentary to publications in food analytics methods journal as related to genetic stability of maize event MON810. *Food and Analytical Methods*, 3: 276.
- Brooks, G.** (2002). The farm level impact of using Bt maize in Spain. Brookes west, Canterbury, United Kingdom. http://europabio.org/pages/ne_gbgmcrops.asp.
- Chelsea, S., Aude, B., Jean-Baptiste, B., Marcel, K., Gérard, P., Alain, P., Ricroch, A. E.** (2011) Assessment of the health impact of GM plant diets in long-term and multigenerational animal feeding trials: A literature review, *Food and Chemical Toxicology*. doi:10.1016/j.fct.2011.11.048

- Clements, M.J., Cambell, K.W., Maragos, C.M., Pilcher, C., Headrick, J.M., Pataky, J.K., White, D.G.** (2003). Influence of Cry1Ab protein and hybrid genotype on fumonisin contamination and fusarium ear rot of corn, *Crop Science*, 43:1283-1293.
- Custodio, M.G., Powers, W.J., Huff-Lonergan, E., Faust, M.A., Stein, J.** (2006). Growth, pork quality, and excretion characteristics of pigs fed Bt corn or non-transgenic corn. *Canadian Journal of Animal Science*, 86(4): 462-469. 10.4141/A05-082.
- Çakır Ş, Yamanel Ş,** (2005). Böceklerde insektisidlere direnç. *Gazi Üniversitesi Kırşehir Eğitim Fakültesi Dergisi*, 6: 21-29.
- De la Campa, R., Hooker, D.C., Miller, J.D., Schaafsma, A.W., Hammond, B.G.**(2005). Modeling effects of environment, insect damage, and *Bt* genotypes on fumonisin accumulation in maize in Argentina and the Philippines. *Mycopathologia*, 159: 539-552.
- Delos, M., Hervieu, F., Folcher, L., Micoud, A., Eychenne, N.** (2007). Biological surveillance programme for the monitoring of crop pests and indicators, French devices and European approach compared. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 2(S1):16-24.
- Delos, M., Hervieu, F., Folcher, L., Micoud, A., Eychenne, N.,** 2006. Biological surveillance programme for the monitoring of crop pests and indicators in France. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 1(S1):30-36.
- Dien, B.S., Bothast, R.J., Iten, L.B., Barrios, L., Eckhoff, S.R.** (2002). Fate of Bt protein and influence of corn hybrid on ethanol production. *Cereal Chemistry*, 79, 582-585.
- Donkin, S. S., Velez, J. C., Totten, A. K., Stanisiewski, E.P., Hartnell, G. F.** (2003). Effects of feeding silage and grain from glyphosate-tolerant or insect-protected corn hybrids on feed intake, ruminal digestion, and milk production in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 86: 1780–1788.
- Dowd, P.F.** (2000). Indirect reduction of ear molds and associated mycotoxins in *Bacillus thuringiensis* corn under controlled and open field conditions: utility and limitations, *Journal of Economic Entomology*, 93:1669-1679.
- Dubelman, S., Ayden, B., Bader, B., Brown, C., Jiang, C., Vlachos, D.** (2005). Cry1Ab protein does not persist in soil after 3 years of sustained Bt corn use. *Environ. Entomol.*, 34:915-921.
- EFSA** (2007). Statement of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on the safe use of the nptII antibiotic resistance marker gene in genetically modified plants adopted on 22-23 March 2007.
- EFSA** (2004). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on the use of antibiotic resistance genes in genetically modified plants. *The EFSA Journal*, 48: 1-18. http://www.efsa.europa.eu/cs/BlobServer/Scientific_Opinion/opinion_gmo_05_en1.pdf.
- EFSA** (2009). Scientific Opinion of the Panel on Genetically Modified Organisms on applications (EFSA-GMO-RX-MON810) for renewal of authorization for the continued marketing of (1) existing food and food ingredients produced from genetically modified insect resistant maize MON810; (2) feed consisting of and/or containing maize MON810 including the use of seed for cultivation; and of (3) food and feed additives and feed materials produced from maize MON810 all under regulation (EC) no 1829/2003 from Monsanto. *The EFSA Journal* 1149, 1-85.
- EPPO**, (2011) PQR - EPPO database on quarantine pests (available online). <http://www.eppo.int>

- Ergin, I., Karababa, A.O.** (2011). Genetiği değiştirilmiş organizmalar: Sağlığa zararlarını kanıtlamak neden zor? Sorunlar ve riskin ipuçları. *Türkiye Halk Sağlığı Dergisi* 9(2): 113-122.
- FAO** (2009). *FAO Statistical Yearbook*. <http://faostat.fao.org/site/567>.
- Finamore, A., Roselli, M., Britti, S., Monastra, G., Ambra, R., Turrini, A. and Mengheri, E.** (2008). Intestinal and Peripheral Immune Response to MON810 Maize Ingestion in Weaning and Old Mice. *J. Agric. Food Chem*, 56: 11533–11539.
- Flores, S., Saxena, D., Stotzky, G.** (2005). Transgenic Bt plants decompose less in soil than non-Bt plants. *Soil Biology & Biochemistry*, 37: 1073-1082.
- Griffitts, J.S., Aroian, R.V.** (2005). Many roads to resistance: how invertebrates adapt to Bt toxins. *BioEssays*, 27: 614-624.
- Guertler, P., Paul, V., Steinke, K., Wiedemann, S., Preißinger, W., Albrecht, C., Spiekers, H., Schwarz, F.J. and Heinrich H.D. Meyer, H.H.D.** (2010). Long-term feeding of genetically modified corn (MON810)- Fate of cry1Ab DNA and recombinant protein during the metabolism of the dairy cow. *Livestock Science*, 131: 250–259.
- Hammond, B., Lemen, J., Dudek, R., Ward, D., Jiang, C., Nemeth, M., Burns, J.** (2006). Results of a 90-day safety assurance study with rats fed grain from corn rootworm-protected corn. *Food Chem. Toxicol.*, 44: 147–160.
- Hammond, B.G., Campbell, K.W., Pilcher, C.D., Degooyer, T.A., Robinson, A.E., McMillen, B.L., Spangler, S.M., Riordan, S.G., Rice, L.G., Richard, J.L.** (2004). Lower fumonisin mycotoxin levels in the grain of Bt corn grown in the United States in 2000-2002. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 1390-1397.
- Hatfield, R.D., Grabber, J., Ralph, J., Brei, K.** (1999). Using the acetyl bromide assay to determine lignin concentration in herbaceous plants: some cautionary notes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 628-632.
- Head, G., Surber, J.B., Watson, J.A., Martin, J.W., Duan, J.J.** (2002). No detection of Cry1Ac protein in soil after multiple years of transgenic Bt cotton (Bollguard) use. *Environ. Entomol.*, 31: 30-36.
- Herman, R.A., Evans, S.L, Shanahan D.M., Mihaliak, C.A., Bormett, G.A., Yound, D.L., Buehrer, J.** (2001). Rapid degradation of Cry1F delta-endotoxin in soil. *Environ. Entomol.* 30, 642-644.
- Herman, R.A., Wolt, J.D., Halliday, W.R.** (2002). Rapid degradation of the Cry1F insecticidal crystal protein in soil. *J. Agric. Food Chem.* 50, 7076-7078.
- Hopkins, D.W., Gregorich, E.G.** (2005). Decomposition of residues and loss of the δ -endotoxin from transgenic (Bt) corn (*Zea mays* L.) in soil. *Can. J. Soil Sci.*, 85: 19-26.
- James, C.** (2011). *Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops* (www.isaaa.org).
- Jennings, J.C., Kolwyck, D.C., Kays, S.B., Whetsell, A.J., Surber, J.B., Cromwell, G.L., Lirette, R.P. Glenn, K.C.** (2003). Determining whether transgenic and endogenous plant DNA and transgenic protein are detectable in muscle from swine fed Roundup Ready soybean meal. *Journal of Animal Science*, 81:1447-1455.
- Jung, H.G., Sheaffer, C.C.** (2004). Influence of *Bt* transgenes on cell wall lignification and digestibility of maize stover for silage. *Crop Science*, 44: 1781-1789.
- Kadlec, J., Rehout, V., Citek, J., Hanusova, L. and Hosnedlova, B.** (2009). The influence of GM Bt maize MON 810 and RR soya in feed mixtures upon slaughter, haematological and biochemical indicators of broiler chickens. *Journal of Agrobiological*, 26 (1): 51-55.

- Keese, P.** (2008). Risks from GMOs due to horizontal gene transfer. *Environmental Biosafety Research*, 7:123-149.
- Kılıç, A. and Akay, M.T.** (2008). A three generation study with genetically modified Bt corn in rats: Biochemical and histopathological investigation. *Food and Chemical Toxicology*, 46:1164-1170.
- Kırtok, Y.** (1998). Mısır Üretimi ve Kullanımı. Ç.Ü. Zir. Fak. Tarla Bitkileri Bölümü. Kocaoluk Basım ve Yayınevi, Tarsus.
- Krogh, H., Griffiths, B.** (2007). ECOGEN – Soil ecological and economic evaluation of genetically modified crops. *Pedobiol.*, 51: 171-173.
- Kurt, O.** (2011). Bitki Islahı. OMU Ziraat Fakültesi Yayın No: 43 (3. Basım).
- Lehman, R.M., Osborne, S.L., Rosentrater, K.A.** (2008). No differences in decomposition rates observed between *Bacillus thuringiensis* and non-*Bacillus thuringiensis* corn residue incubated soil in the field. *Agronomy Journal*, 100: 163-168.
- La Paz J.L., Vicient C., Puigdomènech P., Pla M.** (2010) **Characterization of polyadenylated cryIA(b) transcripts in maize MON810 commercial varieties.** *Anal Bioanal Chem.* 2010 Mar;396(6):2125-33.
- Lucas D.M., Taylor, M.L., Hartnell, G.F., Nemeth, M.A., Glenn, K.C., Davis S.W.** (2007). Broiler Performance and Carcass Characteristics When Fed Diets Containing Lysine Maize (LY038 or LY038 X MON 810), Control, or Conventional Reference Maize. *Poult. Sci.* 86:2152–2161.
- Magg, T., Bohn, M., Klein, D., Merditaj, V., Melchinger, A.E.** (2003). Concentration of moniliformin produced by *Fusarium* species in grains of transgenic Bt maize hybrids compared to their isogenic counterparts and commercial varieties under European corn borer pressure. *Plant Breeding*, 122: 322-327.
- Magg, T., Melchinger, A.E., Klein, D., Bohn, M.** (2002). Relationship between European corn borer resistance and concentration of mycotoxins produced by *Fusarium* spp. in grains of transgenic Bt maize hybrids, their isogenic counterparts, and commercial varieties. *Plant Breeding*, 121: 146-154.
- Mazza, R., Soave, M., Morlacchini, M., Piva, G., Marocco, A.** (2005). Assessing the transfer of genetically modified DNA from feed to animal tissues. *Transgenic Res.* 2005. 14(5):775-84.
- Mesnage, R., Clair, E., Gress, S., Then, C., Szekacs, A., Seralini, G.E.** (2012). Cytotoxicity on human cells of Cry1Ab and Cry1Ac Bt insecticidal toxins alone or with a glyphosate-based herbicide. *Journal of Applied Toxicology*, DOI 10.1002/jat.2712.
- Moyal, P., Tokro, P., Bayram, A., Savopoulou-Soultani, M., Conti, E., Eizaguirre, M., Le Rü, B., Avand-Faghih, A., Frerot, B. and Andreadis, S.** (2011). Origin and taxonomic status of the Palearctic population of the stem borer *Sesamia nonagrioides* (Lefèbvre) (Lepidoptera: Noctuidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 103: 904–922. doi: 10.1111/j.1095-8312.2011.01666.x
- Munkvold, G.P., Hellmich, R.L., Rice, L.G.** (1999). Comparison of fumonisin concentrations in kernels of transgenic Bt maize hybrids and non-transgenic hybrids. *Plant Disease*, 83: 130-138.
- Nakajima, O., Koyano, S., Akiyama, H., Sawada, J., Teshima, R.** (2010). Confirmation of a predicted lack of IgE binding to Cry3Bb1 from genetically modified (GM) crops. *Regul. Toxicol. Pharm.*, 56: 306–311.
- Nemeth, A., Wurz, A., Artim, L., Charlton, S., Dana, G., Glenn, K., Hunst, P., Jennings, J., Shilito, R., Song, P.** (2004). Sensitive PCR analysis of animal tissue samples for

fragments of endogenous and transgenic plant DNA. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52: 6129-6135.

- OECD** (2003). Consensus document on the biology of *Zea mays* subsp. *Mays* (Maize). Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology.
- OECD** (2007). Consensus document on safety information on transgenic plants expressing *Bacillus thuringiensis* - derived insect control proteins. Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology.
- Okunuki, H., Teshima, R., Shigeta, T., Sakushima, J., Akiyama, H., Goda, Y., Toyoda, M., Sawada, J.,** (2002). Increased digestibility of two products in genetically modified food (CP4-EPSPS and Cry1Ab) after preheating. J. Food Hyg Soc Japan, 43: 68-73.
- Onose, J-I., Imai, T., Hasumura, M., Ueda, M., Ozeki, Y., Hirose, M.** (2008). Evaluation of subchronic toxicity of dietary administrated Cry1Ab protein from *Bacillus thuringiensis* var *kurustaki* HD-1 in F344 male rats with chemically induced gastrointestinal impairment. Food and Chemical Toxicology, 46: 2184-2189.
- Özcan S,** (2009). Modern Dünyanın Vazgeçilmez Bitkisi Mısır: Genetiği Değiştirilmiş (Transgenik) Mısırın Tarımsal Üretime 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.
- Papst, C., Utz, H.F., Melchinger, A., Eder, J., Magg, T., Klein, D., Bohn, M.** (2005). Mycotoxins produced by *Fusarium Spp.* in isogenic Bt vs. Non-bt maize hybrids under European corn borer pressure. Agronomy Journal, 97: 219-224.
- Paul, V., Guertler, P., Wiedemann, S. And Meyer, H.H.D.** (2010). Degradation of Cry1Ab protein from genetically modified maize (MON810) in relation to total dietary feed proteins in dairy cow digestion. Transgenic Res, 19:683–689.
- Paul, V., Steinke, K.; Meyer, H. H. D.** (2008). Development and validation of a sensitive enzyme immunoassay for surveillance of Cry1Ab toxin in bovine blood plasma of cows fed Bt-maize (MON810). Analytica Chimica Acta, 607:106–113.
- Piva, G., Morlacchini, M., Pietri, A., Piva, A., Casadei, G.** (2001). Performance of weaned piglets fed insect-protected (MON810) or near isogenic corn. J Anim Sci 79(Suppl. 1):106(Abstr 441).
- Poerschmann, J., Gathmann, A., Augustin, J., Langer, U., Górecki, T.** (2005). Molecular composition of leaves and stems of genetically modified Bt and near-isogenic non-Bt maize—characterization of lignin patterns. Journal of Environmental Quality, 34: 1508-1518.
- Puepke S. G., and Nowierski, R. M.,** (2010). Ecology and management of european corn borer and other lepidopteran pests of corn. <http://nimss.umd.edu/homepages/outline.cfm?trackID=12096>
- Qaim M,** (2009). The Economics of Genetically Modified Crops. Annu. Rev. Resour. Econ, 1: 665–669.
- Rehout, V., Kadlec, J., Cítek, J., Hradecka, E., Hanusova, L., Hosnedlova, B. and Lad, F.** (2009). The influence of genetically modified Bt maize MON 810 in feed mixtures on slaughter, haematological and biochemical indices of broiler chickens. Journal of Animal and Feed Sciences, 18: 490–498.
- Rosati, A, Bogani P, Santarlasci A, Buiatti M.** (2008). Characterisation of 3' transgene insertion site and derived mRNAs in MON810 YieldGard maize. Plant Mol Biol., Jun;67(3):271-81.

- Rossi, F., Morlacchini, M., Fusconi, G., Pietri, A., Mazza, R., Piva, G.** (2005). Effect of Bt corn on broiler growth performance and fate of feed-derived DNA in the digestive tract. *Poultry Science*, 84: 1022-1030.
- Rossi, F., Morlacchini, M., Fusconi, G., Pietri, A., Piva, G.** (2011). Effect of insertion of Bt gene in corn and different fumonisin content on growth performance of weaned piglets. *Italian Journal of Animal Science*, 10(19): 95-100.
- Sadashivappa P, Qaim M.** (2009). Effects of Bt cotton in India during the first five years of adoption. International Association of Agricultural Economists' 2009 Conference, Beijing, China, August 16-22.
- Sagstad, A., Sanden, M., Haugland, Ø., Hansen, A.-C., Olsvik, P.A., Hemre, G.-I.** (2007). Evaluation of stress- and immune-response biomarkers in Atlantic salmon, *Salmon salar* L., fed different levels of genetically modified maize (Bt maize), compared with its near-isogenic parental line and a commercial suprex maize. *Journal of Fish Disease*, 30:201-212.
- Saxena, D., Stotzky, G.** (2001b). Bt corn has a higher lignin content than non-Bt corn. *American Journal of Botany*, 88: 1704-1706.
- Schaafsma, A.W., Hooker, D.C., Baute, T.S., Illincic-Tamburic, L.** (2002). Effect of Bt-corn hybrids on deoxynivalenol content in grain harvest. *Plant Disease*, 86: 1123-1126.
- Shimada, N., Miyamoto, K., Kanda, K., Murata, H.** (2006a). *Bacillus thuringiensis* insecticidal Cry1Ab toxin does not affect the membrane integrity of the mammalian intestinal epithelial cells: an in vitro study. *In vitro Cellular and Developmental Biology-Animal*, 42: 45-49.
- Shimada, N., Miyamoto, K., Kanda, K., Murata, H.** (2006b). Binding of Cry1Ab toxin a *Bacillus thuringiensis* insecticidal toxin, to proteins of the bovine intestinal epithelial cell: an in vitro study. *Applied and Entomology and Zoology*, 41:295-301.
- Singh, C.K., Ojka, A., Kamle, S., Kachru, D.N.** (2007). Assessment of cry1Ab transgene cassette in commercial Bt corn MON810: gene, event, construct & GMO specific concurrent characterization. *Nature Protocols* 2007, DOI:10.1038/nprot.2007.440, http://www.natureprotocols.com/2007/10/23/assessment_of_cry1ab_transgene.php.
- Steinke, K., Guertler, P., Paul, V., Wiedemann, S., Ettle, T. Albrecht, C., Meyer, H.H.D., Spiekers, H.** (2010). Effects of long-term feeding of genetically modified corn (event MON810) on the performance of lactating dairy cows and F. J. Schwarz1 *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 94:185–193
- Stumpff, F., Bondzio, A., Einspanier, R., Martens, H.** (2007). Effects of the *Bacillus thuringiensis*, especially from transgenic plants. *Plant and Soil*, 266: 77-89.
- Tank J.L, Rosi-Marshall E.J., Royer T.V., Whiles M.R., Griffiths N.A., Frauendorf T.C., Treering D.J.** (2010). Occurrence of maize detritus and a transgenic insecticidal protein (Cry1Ab) within the stream network of an agricultural landscape. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Oct 12;107(41):17645-50.
- Tarkalson, D.D., Kachman, S.D., Knops, J.M.N., Thies, J.E., Wortmann, C.S.** (2008). Decomposition of Bt and non-Bt corn hybrid residues in the field. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 80: 211-222.
- Vendomois, J.S., Roullier, F., Cellier, D. and Seralini, G.E.** (2009). A Comparison of the Effects of Three GM Corn Varieties on Mammalian Health. *International Journal of Biological Sciences*. Int. J. Biol. Sci., 5(7):706-726.
- Walsh, M.C., Buzoianu, S.G., Gardiner, G.E., Rea, M.C., Gelencser E., Janosi A., Epstein M.M., Ross P. R., Lawlor P. G.** (2011). Fate of Transgenic DNA from Orally

Administered Bt MON810 maize and effects on immune response and growth in pigs. PLOSOne, NOV 23 2011.

Walsh, M.C., Buzoianu, S.G., Gardiner, G.E., Rea, M.C., Ross, R.P., Cassidy, J.P. and Lawlor, P.G. (2012). Effects of short-term feeding of Bt MON810 maize on growth performance, organ morphology and function in pigs. *British Journal of Nutrition*. 107, 3, pp.364-371.

Wieczorek, H., Gruber, G., Harvey, W.R. Huss, M., Merzendorfer, H. (1999). The plasma membrane H⁺-V-ATPase from tobacco hornworm midgut. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 31:67-74.

Williams, W.P., Windham, G.L., Buckley, P.M., Perkins, J.M. (2005). Southwestern corn borer damage and aflatoxin accumulation in conventional and transgenic corn hybrids. *Field Crops Research*, 91: 329-336.

Wolfersberger, M.G. (1992). V-ATPase energized epithelia and biological insect control. *Jornal of Experimental Biology*, 172: 377-386.