

GIDA AMAÇLI KULLANILMAK ÜZERE İTHALATI İSTENEN GENETİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ MON863xNK603 MISIR ÇEŞİDİ VE ÜRÜNLERİ İÇİN BİLİMSEL RİSK DEĞERLENDİRME RAPORU

RAPORUN HAZIRLANIŞ GEREKÇESİ VE DAYANAKLARI

Bu rapor, genetik olarak değiştirilmiş MON863xNK603 kodlu mısır çeşidinin doğrudan tüketimi ve bu çeşitten üretilecek gıda amaçlı ürünlerin (örneğin; nişasta, dekstrin, glikoz, fruktoz şurubu, yağ, mısır özü proteinleri ve mısır gluteni v.b.) için, 5977 sayılı Biyogüvenlik Kanunu ve ilgili yönetmelik uyarınca Biyogüvenlik Kurulunun 03.03.2011 tarih ve 6 no lu 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 MON863xNK603 mısır çeşidi ile ilgili ithalatçı firma tarafından dosyada sunulan mevcut belgeler, risk değerlendirmesi yapan muhtelif kuruluşların (EFSA, EPA, WHO, FAO, FDA, OECD, 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:

MON863xNK603 mısır çeşidi, Monsanto firması tarafından 2 farklı transgenik mısır çeşidinin klasik ıslah yöntemiyle melezlenmesi sonrası elde edilmiştir. Çeşit içinde yer alan MON863 *Bacillus thuringiensis* bakterisinden kın kanatlılardan mısır kök kurtlarına (*Diabrotica* spp.) insektisit özelliğindeki *cry3Bb1* ve mısır koçan kurduna (*Sesamia* spp.) etkili *cry1Ab*, NK603'den de glifosat herbisitine toleransı sağlayan *CP4 epsps* genlerini taşımaktadır.

RİSK ANALİZİ VE DEĞERLENDİRMESİ

MON863xNK603 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 ve çevreye gen kaçıışı ile oluşabilecek riskler dikkate alınarak yapılmıştır.

Bu çeşitle ilgili bilimsel risk değerlendirilmesi yapılırken, çeşitle ilgili ithalatçı firma/firmalar tarafından başvuru dosyalarında sunulan belgeler, risk değerlendirilmesi yapan kuruluşların (EFSA, WHO, FAO ve FDA) raporları ve bilimsel araştırmaların sonuçları (alerjik ve toksik etki analizleri, genetik değişiminin kararlılığı, morfolojik ve agronomik özellikler, hedef dışı organizmalara etkisi vb.) ile farklı ülkelerde üretim ve tüketim durumları göz önünde bulundurulmuştur. Gıda olarak kullanımı sonucu ortaya çıkabilecek riskler, MON863xNK603 mısır çeşidi ile hayvanlar üzerinde yapılan çalışmaların sonuçları incelenerek, 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

MON863

Monsanto firması tarafından geliştirilen genetiği değiştirilmiş MON863 mısır çeşidi Coleoptera cinsi zararlı böceklerle karşı direnç gösteren bir üründür. Bu çeşit, mısır kök kurduna karşı toksik protein üreten *Bacillus thuringiensis* ssp. *kumamotoensis*'in değiştirilmiş *cry3Bb1* geninin bitkiye aktarımı ile elde edilmiştir.

MON863 mısır çeşidinde ifade edilen sentetik Cry3Bb1 proteininin, değiştirilmemiş (doğal-Bt) proteininden 7 amino asitlik bir farkı vardır. Ayrıca, bu proteinin 2. pozisyonunda bir alanin amino asit eklentisi bulunduğu belirtilmiştir (Anonim, 2003b). Bu mısır çeşidi, transgenik bitkilerde söz konusu genin ekspresyonunu artırarak kök kurdunu daha etkili biçimde yok etmek için tasarlanmıştır. Bitkilerin tohum, genç yaprak, hasıl, olgunlaşmış kök, polen gibi farklı bölümlerinde ifade edilen Cry3Bb1 protein miktarı ELISA ile ölçülmüş, dokunun tipine ve hasat zamanına bağlı olarak taze bitki dokusunun her gramında 10 – 81 mikrogram olarak belirlenmiştir. MON863 mısır genç yaprak, hasıl, tohumlarında NptII proteininin ifade edildiği ELISA ile yapılan ölçümlerde doğrulanmıştır (limit sınır (LOD): ≤ 0.076 mikrogram/g) (Anonim, 2011).

Bakteriyel plazmit vektörü PV-ZMIR13'den *MluI* kesim enzimi kullanılarak izole edilmiş olan değiştirilmiş *cry3Bb1* genini içeren DNA parçası, kendilenmiş bir mısır hattı olan AT824'nin olgunlaşmamış embriolarına partikül bombardımanı yöntemi ile aktarılmıştır.

Bitkiye aktarılan yabancı DNA parçası, 2 ekspresyon kasetinden oluşmaktadır. Bu kasetler seçici markör geni *nptII* (*aph(3')*IIa-neomisin fosfotransferaz II) ve böcek öldürücü protein kodlayan sentetik *Bacillus thuringiensis cry3Bb1* gen bölgeleridir. *nptII* gen kaseti; karnabahar mozaik virüsünün 35S promotör bölgesini ve terminatör olarak da NOS 3' sekans bölgelerini içermektedir. Sentetik *cry3Bb1* kaseti ise; karnabahar mozaik virüsünün 35S promotörü ile kontrol edilmektedir ve ifade edilmeyen buğday klorofil a/b bağlanma proteininin 5'mRNA lider sekansını, çeltik aktin intronunu (*ract1*), transkripsiyonu sonlandıran ve poliadenilasyon sağlayan buğday ısı şok proteini 17.3'ün ifade edilmeyen 3' ucu gibi elementleri içermektedir (Anonim, 2003a).

Bitki DNA'sı ve bitkiye aktarılan kaset arasındaki bölgenin dizi analizi ve biyoinformatik analizleri yapılmış, 5' ve 3' uçlarda mitokondriyel DNA'nın varlığı gözlenmiştir. Mitokondriyel DNA'nın nükleer bitki genomuna entegrasyonu EFSA tarafından bitki biyolojisinde normal bir olay olarak yorumlanmıştır (EFSA, 2004b, 2005). Bu bölgenin zararlı olmadığı, aktarılan kasetin 5' ve 3' uçlarındaki bağlantı bölgelerindeki uzantıların dizisi ile yapılan biyoinformatik analizler değerlendirilmiş, potansiyel alerjik, toksik veya insan sağlığına zararlı olabilecek peptitler veya proteinler ile benzerlik bulunmamıştır.

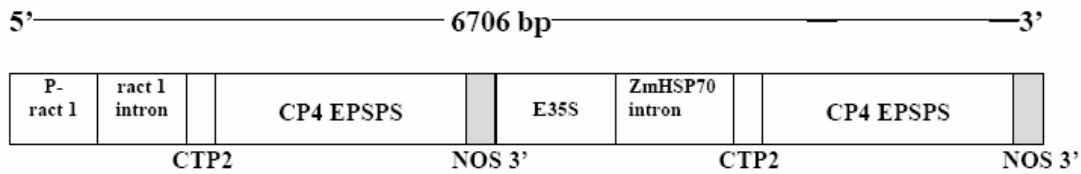
MON863 mısır çeşidinde yapılan moleküler analizler, Cry3Bb1 ve NptII proteinlerine ait DNA parçalarının bitkiye aktarıldığını göstermiştir. EFSA GMO paneli tarafından, *nptII* geninin seçici işaretleyici olarak kullanımının zararlı bir etkisinin pek ihtimal dahilinde olmadığı belirtilmiştir (EFSA, 2004b, 2007, 2009a).

NK603

NK603 mısır çeşidi, PV-ZMGT32 plazmit vektöründen izole edilmiş, aşağıda ayrıntıları verilmiş DNA parçasının partikül bombardımanı ile mısır bitkisine aktarılması sonucu oluşturulmuştur. Yapılan gen aktarımı ile *Agrobacterium* sp. CP4 suşunun glifosat tolerant 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) proteinini (CP4 EPSPS) kodlayan genin ekspresyonu sağlanmış ve glifosat herbisitine tolerant NK603 mısır çeşidi elde edilmiştir (EFSA, 2008, 2009b).

PV-ZMGT32 plazmit vektörü *nptII* (prokaryotik T5 transpozonundan elde edilen, kanamisin direnç genini kodlayan) seçici markör gen ve replikasyon orijini (*ori*) bölgelerini içermektedir. Ancak bu plazmit *MluI* kesim enzimi ile *nptII* ve *ori* bölgeleri dışarıda kalacak şekilde kesilerek, yalnızca PV-ZMGT32L olarak isimlendirilen DNA parçası mısır hücrelerine aktarılmıştır. Moleküler analizler, NK603 mısırın aktarılmış tek bir DNA bölgesi içerdiğini göstermiştir. Bu bölge, birbirine komşu iki gen ekspresyon kasetini içermektedir ve her bir kaset farklı promotörler ile kontrol edilen *cp4 epsps* genini içermektedir. *Cp4 epsps* genleri, *ctp* (Kloroplast Transit Peptitleri) sekans bölgeleri ile yapıktır ve *Ctp* *Cp4 epsps* proteinini kendisinin doğal lokasyonu olan kloroplastlara yönlendirme görevi görmektedir. İlk *ctp2-cp4 epsps* kaseti, *ctp*'nin yukarı ucuna bağlanan çeltik aktin promotörü ve çeltik intron dizileri tarafından; ikinci *ctp2-cp4 epsps* kaseti ise yine *ctp*'nin yukarı ucuna bağlanan karnabahar mozaik virüsünün (CaMV) kuvvetlendirilmiş 35S promotörünü ve mısır Hp proteinini kodlayan genden türetilen intron tarafından kontrol edilmektedir (Şekil 1) (EFSA 2009b; Chrenkova ve ark., 2005).

NK603 mısır çeşidinin yapısı Southern analizi ve DNA dizileme çalışmaları ile incelenmiş, CP4 *epsps* ekspresyon kasetine ek olarak, ilgili bölgenin bir ucunda bazı yeni moleküler düzenlemeler olduğu ve kloroplast DNA fragmanı içerdiği gözlenmiştir. Gen aktarım bölgesindeki yeni düzenlemelerin ve kloroplast DNA'sı eklentisinin, bitkide yeni özelliklerin ortaya çıkmasına neden olmadığı ve güvenlik riski oluşturmadığı düşünülmüştür (EFSA, 2008). EFSA tarafından DNA parçasının aktarılması sonucu olarak, yeni bir peptidin veya proteinin oluşma olasılığının pek mümkün görünmediği rapor edilmiştir. Biyoinformatik analizler NK603 mısır çeşidinde bilinen toksin ve alerjenleri kodlayan dizileri ile homolojisinin olmadığını göstermiştir. Bitkiye aktarılan yabancı DNA bölgesinin uzayan kısımlarının baz dizileri ile yapılan BLAST analizleri, DNA aktarımı sonucunda daha önce var olan açık okuma çerçevesinin (ORF) bozulmadığını göstermiştir.



Şekil 1. NK603 mısır çeşidinde bulunan *cp4 epsps* ekspresyon kasetleri (Deng ve ark., 1999; Chrenkova ve ark., 2005).

1.2. Aktarılan genlerin moleküler yapı, ekspresyonu ve kararlılık analizleri

İki transgenik çeşidin çaprazlanması ile oluşturulan MON863xNK603 mısır çeşidine aktarılmış olan her iki DNA parçası bu çeşitte korunmuştur. İlgili mısır tanelerinde yapılan moleküler analizlerde Cry3Bb1 ve *Cp4 epsps* proteinlerinin belirlenebilir seviyelerde

olmasına rağmen NptII'nin belirlenebilir seviyelerde olmadığı belirtilmiştir. Cry3Bb1 ve Cp4 epsps proteinlerinin ekspresyon seviyeleri, MON863 ve NK603 transgenik mısır çeşitlerindeki seviyeler ile kıyaslanabilir düzeydedir (EFSA, 2005).

İki özelliğin birleştirildiği MON863xNK603 mısır çeşidinde her parçanın ve aktarılan özelliğin korunduğu Southern analizi verileri ile gösterilmiştir. EFSA paneli bir araya getirilmiş (stacked) transgenlerin kararlılığı ile ilgili kuşku uyandıracak bir veri olmadığı hususunda görüş birliğine varmıştır (EFSA, 2005).

2. Kimyasal Bileşim ve Tarımsal Özelliklerin Risk Analizi

2.1. Kimyasal bileşim analizi

MON863

İki sezonda yetiştirilen MON863 mısır çeşidi ve kontrolleri arasında karşılaştırmalı kimyasal analizler yapıldığında makro besinler, mikro besinler ve anti-besinlerin yanı sıra ikincil metabolitleri ölçülmüştür. Karşılaştırmalarda, farklı bölgelerden elde edilen MON863 mısır çeşidi ve kontrolleri arasında palmitik asit düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir. Ancak bu farklılık, doğal biyolojik değişim sınırları içinde kalmıştır (EFSA, 2004a; George ve ark., 2004).

NK603

Değişik dönemlerde yapılan tarla denemelerinden elde edilen NK603 mısır çeşidi ve GD olmayan kontrollerinde besin madde analizleri, mineraller (kalsiyum, bakır, demir, potasyum, magnezyum, manganez, sodyum, fosfor ve çinko), vitamin E, amino asitler, yağ asitleri, ADF, NDF, fitik asit, tripsin inhibitörleri, furfural ve ferulik asit, p-kumarik asit ve rafinoz analizleri yapılmıştır. İki yıl yetiştirilen NK603 mısır tanelerinin kimyasal analizleri sonucunda stearik asit içeriğinde istatistiksel anlamlı bir fark saptanmıştır. Ancak bu fark diğer yıldaki ürünlerde gözlenmemiştir. Bu analizler sonucunda, NK603 mısır çeşidi ile genetiği değiştirilmemiş eşdeğeri arasında farklılıklar gözlenirse de, bu farklılıklar doğal biyolojik değişim sınırları içinde kaldığı ifade edilmiştir (EFSA, 2003a, 2003b).

MON863xNK603

Tarla denemeleri, Arjantin'de tek bir sezonda (2002-2003) iki farklı coğrafi bölgede, dört farklı yerde ve üç tekrarlamalı olarak yapılmıştır. MON863xNK603 ve kontrol olarak kullanılan mısır hasıllarında protein, yağ, kül, nem, asit deterjan lif (ADF), nötral deterjan lif (NDF), mineraller (kalsiyum ve fosfor) toplam karbonhidrat düzeyleri belirlenmiştir. Tanelerinde de protein, yağ, kül, nem, ADF, NDF, mineraller, (kalsiyum, bakır, magnezyum, manganez, fosfor, potasyum, sodyum ve çinko), vitaminler (B₁, B₂, B₆, E, niasin, folik asit), amino asitler, yağ asitleri, toplam karbonhidrat düzeyleri, fitik asit ve rafinoz ve ikincil metabolitler (furfural, ferulik asit ve p-kumarik asit) analizleri yapılmıştır. Elde edilen tüm verilerin her bölge için karşılaştırmalı istatistik analizleri yapılmıştır. MON863xNK603 mısır çeşidi ve kontrollerinden elde edilen veriler karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlenmiştir. Ancak bu farklılıkların çoğunun tutarlı olmadığı görülmüştür. Tek tutarlı farklılık araşidik asit düzeyinde meydana gelmiştir. Kontrol grubu mısırdaki toplam yağ asidi konsantrasyonu içindeki araşidik asit düzeyi %0.42'den MON863xNK603 mısır çeşidinde %0.45'e yükselmiştir. Bu değerler ticari referans çeşitlerinde %0.38-0.54 aralığında bulunurken, literatürde, %0.1-2.0 aralığında olduğu belirtilmektedir (Anonim, 2003c; EFSA, 2005; Ridley, 2011). Dunlap ve ark., (1995) mısır tanelerindeki yağ asidi kompozisyonun, özellikle genetik faktörler tarafından etkilendiğini ifade etmektedirler.

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 elde edildiği için, bu yeni çeşitlerde sadece amaca, yani hastalığa/ böceklerle/ yabancı otlara dayanıklılık bakımından değişiklik meydana gelmektedir. Dolayısıyla yapılan araştırmaların sonucu; önemli tarımsal özellikler (tohum ve çiçek morfolojisi, bitki boyu, vejetasyon süresi vb.) bakımından böceklerle ve herbisitlere dayanıklılık geni aktarılmış olan MON863xNK603 mısır çeşidi ile geleneksel hibrit mısır çeşitleri arasında bilinen tarımsal ve biyolojik karakterler ile yabancı ot rekabeti bakımından farklılığın olduğuna dair kesin bir bulgu rapor edilmemiştir (EFSA, 2007).

3. Çevresel Risk Değerlendirmesi

Ülkemizde GD bitkilerin yetiştirilmesi kanunen yasak olduğundan çevresel risk değerlendirmeleri; MON863xNK603 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 ve işleme esnasında kazayla çevreye yayılma 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 mısır 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 karışarak kış koşullarını atlatıp, ilkbaharda çimlenip neslini devam ettirme şansı da bulunmamaktadır. Koçan üzerinden dökülen mısır danelerinin de hayatta kalması çok zordur ve uzun yıllar Türkiye'de yetiştirilmesine rağmen kültüre alınan alanlar dışında kendiliğinden gelişen mısır bitkisi ne rastlanmamaktadır. Ayrıca mısırın Türkiye'de tozlaşma potansiyeline sahip yabancı türleri bulunmamaktadır. Ülkemizde yerli mısır çeşitleri çok sınırlı alanlarda yetiştirilmektedir. GD mısır kültüre alınmadığı için de yerli çeşitlere polen akışı riski çok az görülmektedir. Mısır bitkisi Amerika orijinli bir bitki olup, Amerika kıtasının keşfinden sonra Kuzey Afrika üzerinden Türkiye'ye getirilmiştir. Dolayısıyla Türkiye mısır bitkisinin orijin merkezi değildir ve Türkiye'de endemik bir mısır türü de bulunmamaktadır. Bununla birlikte mısır bitkisinin asırlardan beri Türkiye'de yetiştiriliyor olması sebebiyle sayısız lokal popülasyon ve ıslah edilen çok sayıda yerli çeşidi mevcuttur. Her ne kadar ıslah edilen çeşitlerin ve lokal popülasyonların ihtiva ettikleri ekstrem derecede özel karakterler, literatürlere yansımamış olmakla birlikte bu çeşit ve popülasyonlar biyolojik çeşitlilik açısından önem taşımaktadır.

Gıda amaçlı ithal talebinde bulunulan iki herbisite ve böceklerle dayanıklılık geni aktarılmış olan MON863xNK603 mısır çeşidi kültüre alınmasa da kontrol edilemeyen faktörler sebebiyle yerli çeşitlere ve lokal popülasyonlara polen kaçışı riskini çok az da olsa potansiyel olarak taşımaktadır.

3.2. Gen transfer potansiyeli

Herhangi bir genin transfer olabilmesi; DNA'nın doğrudan yatay olarak transferi veya ilgili geni taşıyan tohumlardan oluşan bitkilerin tozlaşması ile (dikey gen transferi ile mümkün olmaktadır (EFSA, 2005).

3.2.1. Bitkiden bitkiye gen transferi

Mısır yabancı döllen bir bitkidir. Çiçeklenme periyodu boyunca bir mısır bitkisi 5 milyondan fazla polen üretebilmektedir (Kurt, 2011). Buna bağlı olarak bir bitkiden diğer bir bitkiye polen geçişi, dolayısıyla gen akışı doğal bir süreçtir. Türkiye’de GD mısırdan gen kaçıışı olasılığını sınırlandıran faktörler:

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

Mısır, uygun koşullarda tarımsal ekosistem içerisinde canlılığını sürdürebilen bir bitkidir. İthal talep edilen MON863xNK603 mısır çeşidi sadece gıda amaçlı olarak kullanılacaktır. Bununla birlikte kontrol edilemeyen faktörler (kaza, dikkatsizlik, kasıt vb.) ile çok az da olsa çevreye yayılma olasılığı vardır.

GD mısır kültüre alındığında belirli böceklerle ve herbisitlere karşı dayanıklılık geni içermesi, herbisit ve insektisit kullanılması sonucu yabancı otlarla ve belirli böceklerle mücadele açısından mısır yetiştiriciliğinde önemli bir avantaj sağlamaktadır. Ancak GD mısır, herbisite ve böceğe dayanıklılık geni dışında hastalıklara dayanıklılık, diğer kültür bitkileri ile rekabette üstünlük, ekstrem koşullarda yaşamını sürdürme, dormansiye sahip olmama gibi özellikler bakımından geleneksel mısır çeşitlerine göre bir farklılık içermemektedir. Bu durumda da mısır üretim alanları dışındaki farklı ekolojilerde kendiliğinden yetişerek, yaşamını sürdürme şansı bulunmamaktadır. Ayrıca tarla denemeleri MON863xNK603 mısır çeşidinin geleneksel mısır çeşidine göre aşırı bir yayılma, farklı bir gelişme ya da doğaya uyum sağlama özelliğinin bulunmadığını göstermiştir. Ayrıca mevcut literatür incelendiğinde söz konusu çeşidin doğada kalabilme, kışı geçirebilme gibi farklı bir özellik taşımasına yönelik herhangi bir bulguya da rastlanmamıştır.

3.2.2. Bitkiden bakteriye gen transferi potansiyeli

Mevcut bulgular dikkate alındığında doğal koşullarda GD bitkilerden mikroorganizmalara yatay gen transferi hemen hemen imkansız görünmektedir. Bu sadece mikroorganizmalar içinde homolog rekombinasyonların varlığında mümkün olabilmektedir. EFSA (2004c)

MON863xNK603 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. Ancak GD bitki ve ürünlerinden doğaya düşük de olsa dağılabilen bu materyal doğal olarak mikroorganizmalar tarafından parçalanmaktadır (EFSA, 2008).

Ayrıca MON863xNK603 mısır çeşidindeki *cry3Bb1*, *nptII* ve *cp4 epsps* genleri prokaryotik mikroorganizmalarda sınırlı bir aktiviteye sahip yatay gen transferinin çok düşük olduğu ökaryotik promotör tarafından kontrol edilmektedir. Ayrıca adı geçen özellikleri taşıyan genler prokaryotik düzenleyici elemanlar içerecek şekilde doğada mikroorganizmalarda zaten bulunmaktadır.

Adı geçen mısır çeşidindeki *cry*, ve *cp4 epsps* genlerinin yapısı ve orijini dikkate alındığında çevre ve sindirim sistemindeki seleksiyon baskısının eksikliği, bu genlerin diğer mikro organizmalara farklı bir özellik katacak yada uyumunu arttıracak şekilde yatay 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 doğal mikrobiyal komüniteye yeni bir özellik katmayacağı gibi mevcut mikroorganizmalara uyumu da son derece sınırlıdır.

MON863 mısır hattı ise neomisin fosfotransferaz II enzimini kodlayan tam bir *nptII* genini taşımaktadır. Bu gen MON863 çeşidinin oluşturulması sırasında seçici markör olarak kullanılmıştır. Bu MON863xNK603 mısır çeşidinde de mevcuttur. Yapılan incelemeler (EFSA, 2004c) *nptII* seleksiyon markörünün kullanımının çevre, insan ve hayvan sağlığı açısından bir risk oluşturmayacağını göstermektedir. Bu sonuç Avrupa'da insan ve hayvan hekimliğinde neomisin ve kanamisinin sınırlı olarak kullanılması, bakteri popülasyonlarında bu genin yaygın olarak bulunduğu ve farklı alemlerde yer alan bitkiden bakteriye yatay gen transferinin çok düşük bir risk oluşturduğu temeline dayanmaktadır (Bennett ve ark., 2004). *nptII* geni geçmişte emniyetle kullanımı kanıtlanmış ve iyi bir seleksiyon markörü olarak bilinmekte (Nap ve ark., 1992; Redenbaugh ve ark., 1994) olmasına karşın, son yıllarda yapılan plazmit markör kurtarma çalışmaları *in vitro* koşullarda *nptII* geninin bitkiden bakteriye (*Streptococcus gordonii*) transfer olabileceğini göstermiştir. Yapılan *in vivo* denemelerde ise bu transferin gerçekleşmediği görülmüş ancak tükürük ve dışkıda yatay gen transferinin mümkün olabileceği gösterilmiştir (Kharazmi ve ark., 2002, 2003).

3.2.3. Mikroorganizmalara gen transferi

Mevcut bilimsel veriler dikkate alındığında, ancak mikroorganizmalar arasındaki uyumlu rekombinasyonlar olması durumunda gen transferi gerçekleştiği için, doğal koşullarda GD bitkilerden mikroorganizmalara gen transferi hemen hemen imkansız görünmektedir. MON863xNK603 mısır çeşidinin 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 (EFSA, 2004c, 2007)

3.3. Hedef olmayan organizmalar ile etkileşim potansiyeli

MON863xNK603 mısır çeşidi ile hedef olmayan organizmalar çevreye kazara dağılan GD mısır tohumlarından oluşan bitkiler veya hayvan dışkı ve gübreleri ile indirekt olarak karşılaşması olasıdır. Ancak söz konusu mısır çeşidine ait Cry proteinlerinin hedef olmayan organizmalara etkisine yönelik yürütülen araştırmalar (Ahmad ve ark., 2005; Lutdz ve ark., 2005); bu proteinlerin GD mısırla beslenen hayvanların sindirim sisteminde enzimatik olarak parçalandığı, dışkı ve gübre şeklinde çevreye yayılan miktarın son derece düşük olduğunu göstermiştir. Bu şekilde atılan proteinler de büyük oranda doğada dışkı ve gübre içindeki mikrobiyal faaliyet sonucu tamamen parçalanmaktadır (EFSA, 2008).

MON863xNK603 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).

4. Gıda Güvenliğinin Değerlendirmesi

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 MON863XNK603 mısırla beslenen laboratuvar hayvanları ile et, süt ve yumurta üretiminde kullanılan hayvanlarla yapılan çalışmalar dikkate alınarak yapılmıştır.

4.1. İşlemenin etkisi

MON863xNK603 mısır çeşidinin üretim ve işleme etkilerinin geleneksel mısırdan üretilenlerden herhangi bir farkının olmayacağı bildirilmektedir (Anonim, 2003c).

4.2. Toksikolojik değerlendirmeler

4.2.1. MON863xNK603 mısırdaki ifade edilen yeni proteinlerin toksikolojik değerlendirmesi

CP4 EPSPS ve CP4 EPSPS L214P transgenik proteinlerin güvenliği (NK603 mısır için) (EFSA, 2003a, b) ile Cry3Bb1 ve NptII proteinlerin güvenliği (MON863 mısır için) (EFSA 2004a, b) değerlendirilmiştir. Proteinlerin fonksiyonel özellikleri göz önüne alındığında ifade edilen proteinler arasında bir etkileşme olasılığı bulunmadığı ifade edilmiştir.

MON863

Biyoinformatik analizlerde MON863 mısır çeşidinde ifade edilen Cry3Bb1 ve nptII proteinlerinin amino asit dizilişleri ile memelilere toksik olduğu bilinen proteinler arasında hiçbir benzerlik bulunmamaktadır (EFSA, 2010). Bunun yanı sıra Nakajima ve ark., (2010) tarafından yapılan bir çalışmada alerjik hastalardan alınan immünglobülin E (IgE)'nin Cry3Bb1'e bağlanma durumu araştırılmıştır. Bunun için araştırmacılar önce mısıra alerjisi olan 13 ABD'li hasta ile değişik gıda alerjisine sahip 55 Japon hastadan alınan serum örneklerine *E. coli*'de ifade edilen rekombinant Cry3Bb1 proteinini katarak, geliştirdikleri ELISA yöntemiyle analiz etmişlerdir. Japon hastalardan alınan 2 örnek şüpheli pozitif olarak görüldüğünden Western blot ile yeniden yapılan analizlerde IgE ile Cry3Bb1 arasında özel olmayan bir bağlanma olduğu görülmüştür. Daha sonra Western Blot yöntemiyle, MON863 mısır ile genetiği değiştirilmemiş mısırdan ekstrakte edilen bütün proteinler ile mısır alerjisi olan hastalardan alınan serum örneklerindeki IgE antikorları incelenmiştir. Bunun sonucunda, MON863 mısır çeşidine yönelik oluşabilecek istenmeyen alerjik reaksiyonların olasılığının düşük olduğu anlaşılmıştır. Bu çalışmayla gıda alerjisine sahip insanlarda Cry3Bb1 proteinine IgE'nin bağlanmayacağı sonucuna varılmıştır. Aynı çalışma EFSA'nın 2010 yılı raporunda da Kim ve ark. (2009) tarafından yapılan diğer çalışmayla değerlendirilmiş ve MON863 mısırdaki bulunan Cry3Bb1 proteininin alerjik olmadığı sonucuna varılmıştır.

Hyun ve ark. (2005) tarafından 2 ayrı yerde MON863 mısır, onun genetik yönden benzeri transgenik olmayan mısır (RX670) veya 2 geleneksel transgenik olmayan mısır (DK647 ve RX740) içeren yemlerle beslenen domuzların büyüme performansını ve büyümesini bitirmiş domuzların karkas özelliklerini belirlemek için 2 çalışma yapılmıştır. Yapılan çalışma sonunda MON863 mısır tüketen büyüyen ve ya büyümesini tamamlamış domuzların büyüme performansı ve karkas özelliklerinin, transgenik olmayan mısır tüketen domuzlarıkiyle eşdeğer olduğu sonucuna varılmıştır.

MON863 mısır çeşidinin sıçanlarda 90 günlük oral subkronik toksisite çalışması Hammond ve ark., (2006) tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada (her grupta 20 sıçan, erkek ve dişi yarı yarıya), sıçanlar %11 veya %33 oranında MON863 mısır veya genetiği değiştirilmemiş mısır içeren yemle beslenmişlerdir. Sıçanların sağlık durumları, vücut ağırlığı, yem tüketimi, klinik patoloji parametreleri (hematoloji, kan ve idrar analizleri), organ ağırlıkları, makro ve mikroskopik doku örnekleri incelenmiştir. Araştırma sonucu gruplar arasında herhangi bir farklılık bulunmamış ve MON863 ile beslenen sıçanların, en az diğer geleneksel mısırlarla beslenen hayvanlar kadar güvende olabileceği gösterilmiştir. Ancak Hammond ve ark., (2006) tarafından Monsanto firmasının sorumluluğunda MON863 mısır ile sıçanlarda yapılan 90 günlük oral subkronik toksisite çalışmasının böbreklerle ilgili patolojik bulguları, Seralini ve ark., (2007) tarafından yeniden değerlendirilmiştir.

Seralini ve ark., (2007) tarafından yapılan değerlendirme sonucunda MON863 tüketen sıçanlarda doza bağlı bir şekilde canlı ağırlık oranında önemli bir değişim tespit edilmiştir (erkeklerde %3.3 azalma, dişilerde %3.7 oranında artma). Biyokimyasal analizler, erkek ve dişiler farklı duyarlılığa sahip olsa da hepatorenal toksisite belirtilerini açığa çıkarmıştır. Trigliseritlerde %24-40 oranında artış (dişilerde sırasıyla hem MON863 mısırı %11 oranında 14 hafta yiyenlerde hem de %33 oranında 5 hafta yiyenlerde); erkeklerde idrarla fosfor ve sodyum atılmasında %31-35 oranında azalma (%33 MON863 mısır içeren yemle 14 hafta beslenenlerde), diğer gruplarla karşılaştırıldığında en önemli sonuçlar olarak elde edilmiştir. Bu da olası patolojik durumun boyutu ve gerçek niteliğini göstermek için daha uzun süreli deneylerin gerekli olduğunu göstermektedir. Seralini ve ark., (2007)'na göre sunulan bu veriler MON863 mısırın güvenli bir ürün olduğu sonucunu yansıtmamaktadır.

Doull ve ark., (2007), Seralini ve ark., (2007) tarafından MON863 mısır çeşidinin 90 günlük toksisite çalışmasında hepatorenal etkiler gösterdiğini öne sürdüğü değerleri tekrar analiz ederek değerlendirmişlerdir. Oluşturulan panel sonucunda 90 günlük sıçan çalışmasında MON863 mısır çeşidinin olumsuz etkileri olduğunu gösteren hiçbir kanıt sağlanamamıştır. Her iki durumda da, istatistiksel bulgular Monsanto ile Seralini ve arkadaşlarına bildirilmiştir.

Vendemois ve ark., (2009) tarafından yapılan bir çalışmada gıda ve yem olarak kullanılan 3 ana ticari genetiği değiştirilmiş mısır (NK603, MON810 ve MON863), sıçanlara yedirilerek alınan kan ve organlarında karşılaştırmalı analizler yapılmıştır. 2 farklı laboratuvar ve 2 farklı tarihte yapılan bu çalışmada yaklaşık 4-6 haftalık erkek ve dişi Sprague-Dawley ırkı sıçanlar kullanılmıştır. Her grupta 20 erkek ve 20 dişi tutulmuş, ancak her grupta 10 sıçandan kan ve idrar örnekleri alınmıştır. Çalışma OECD rehberi ve standartları kullanılarak yürütülmüştür. Her tip genetiği değiştirilmiş mısır için yalnız 2 besleme kürü kullanılmıştır (%33 veya %11 oranında genetiği değiştirilmiş mısır içeren bir yem). Kontrol için de 2 farklı kontrol grubu tutulmuştur (aynı miktarda en yakın özellikte veya ana hat mısır içeren yemler). Diğer 6 gruba genetiği değiştirilmemiş farklı mısır hatları içeren yemler yedirilmiştir. Denemelerin sonunda kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında MON863 yedirilen dişi sıçanlarda serum glukoz ve trigliseritlerinde yaklaşık %40 artış, karaciğer ağırlığında %7 artış ve tüm vücut ağırlığında %3.7 oranında artış tespit edilmiştir. Ayrıca dişilerde kreatinin düzeyi, kandaki üre azotu ve idrarda klor atılımının arttığı, ama erkeklerin böbrek fonksiyonlarında (kreatinin, ve idrarda sodyum, potasyum ve fosfor) daha fazla varyasyonlar bulunduğu kaydedilmiştir. MON863 yedirilen erkek sıçanlarda dikkat çeken kronik bir nefropatiyle böbrek ağırlıkları %7 oranında düşmüş, vücut ağırlıkları ise %3.3 oranında azalmıştır. Bunun yanı sıra erkeklerde albumin, globulin ve alanin aminotransferaz gibi bazı karaciğer parametrelerinde de farklılıklar olduğu belirtilmiştir. Sonuçta MON863 mısır yedirilen sıçanlarda plazma kreatinin düzeyi ile kronik hücreler arası nefropatiyle ilişkili iyon geri alınmasındaki artış nedeniyle böbrek yetmezliği görüldüğü bildirilmiştir. Bu durum Hammond ve ark., (2006)'nın raporlarında da belirtilmiştir. Bununla beraber Hammond ve ark., (2006)'nın sonuçlarında, kullandıkları sıçan ırkının özellikle yaşlanma nedeniyle bu tür patolojik durumlara duyarlı olduğu için böbrek fonksiyonlarındaki bozulma toksik etki olarak değerlendirilmemiştir. Ancak Vendemois ve ark., (2009)'u çalışmalarında sıçanların 5 ay gibi

genç sayılacak bir yaşta olduklarından bu değerlendirmelerin yanlış olduğunu belirtmişlerdir. Daha da önemlisi böbrekteki bu bulguların deneme yapılan bütün gruplarda tespit edilmediği, yalnızca MON863'e özel olarak tespit edildiği görülmüştür. Böbrek fonksiyonlarının bozulmasına ya genetiği değiştirme teknolojisinin doğasında bulunan mutajenik etki ya da MON863 tarafından üretilen yeni mutant Bt toksin şekillerinin neden olabileceği yorumu yapılmıştır. Araştırmacılar hepatorenal toksisitenin genetiği değiştirilmiş mısır çeşitlerinde (MON863, MON810 ve NK603) yeni kazandırılan pestisit özelliklerinden kaynaklanabileceği sonucuna varmışlardır.

NK603

NK603'te ifade edilen proteinlerin düşük miktarda olması ve yeterli bir şekilde izole edilememesi nedeniyle toksisite çalışmalarında *E.coli* tarafından üretilen Cp4 epsps ile Cp4 epsps L214P proteinlerinin kullanıldığı çalışmalar EFSA tarafından değerlendirilmiştir. EFSA, bitkisel proteinlerle bakteriyel proteinlerin eşdeğer olduğunun deneysel olarak kanıtlanması nedeniyle, toksisite çalışmalarında bakteriyel proteinlerinin bitkisel proteinlerin yerine kullanılabilirliğini kabul etmektedir. Cp4 epsps ve Cp4 epsps L214P proteinleriyle farelerde akut oral toksisite çalışmalarında hiçbir istenmeyen etki görülmediği, yapay mide sıvısında hızla parçalandığı bildirilmiştir. Biyoinformatik incelemelerin Cp4 epsps proteinlerinin bilinen toksik ve alerjenik proteinlerle eşdeğer olmadıklarını gösterdiği rapor edilmiştir. Sıçanlarla yapılan 13 haftalık oral toksisite çalışmasında ters bir etki görülmediği, et tipi piliçlerle yapılan 42 günlük besleme çalışması da NK603 mısır çeşidinin kendisine genetik olarak yakın genetiği değiştirilmemiş mısır veya diğer ticari mısır çeşitleriyle karşılaştırılmasında besleyici yönden farklı olmadığı belirtilmiştir. NK603'ün diğer genetiği değiştirilmemiş mısırlarla besin değeri yönünden eşdeğer olduğunun EFSA'ya sunulan Angus-Continental melezi danalar, Holstein süt inekleri ve 2 domuz ırkında büyütme-bitirme döneminde yapılan çalışmalarda da doğrulandığı rapor edilmiştir. EFSA'ya göre bu bulgular, proteinlerin amaçlanan etkilerinin dışında başka bir etkiye yol açmadığını destekler niteliktedir (EFSA, 2003a, b).

Yukarıda belirtilen Vendomois ve ark. (2009) tarafından yapılan çalışmada, NK603 mısır ile elde edilen sonuçların cinsiyete bağlı olduğu ve fizyolojik bozukluk açısından erkeklerin dişilerden daha duyarlı olduğu görülmüştür. Elde edilen değişikliklerin en yüksek doz verilen (%33 GD mısır verilen grup) grubun erkeklerinde ve en önemli farklılıkların da erkeklerin böbreklerinde görüldüğü bildirilmiştir. İdrardaki iyon dengesinin bozulması ve kreatinin klerensinin artışıyla beraber azot düzeyinin azalmasının böbrek hasarını işaret ettiği rapor edilmiştir. Ancak yazarlar bu değişikliğin glifosat kalıntısı nedeniyle olabileceğine ve böbreklere yönelik toksisitenin varlığını kesin olarak ortaya koyabilmek için uzun süreli besleme denemelerinin yapılması gerektiğine işaret etmişlerdir.

4.2.2. Proteinler dışındaki yeni bileşiklerin toksikolojik değerlendirmesi

Proteinler dışında yeni bileşikler olmadığı için bu değerlendirmeye gerek duyulmamıştır.

4.2.3. Genetiği değiştirilmiş çeşidin bütününe toksikolojik değerlendirilmesi

EFSA (2005) raporunda yer alan 90 günlük subkronik oral toksisite çalışmasında Sprague Dawley sıçan ırkı kullanılmıştır. Çalışma OECD rehberi 408'e göre planlanmıştır. Her grupta 40 hayvan bulunan 3 grup (her grupta 20 erkek 20 dişi) kullanılmıştır. 90 gün boyunca hayvanlara %33 mısır içeren bir yem verilmiştir. Kontrol grubuna %33 oranında benzer bir mısır (DKC46-26) verilirken diğer 2 gruba ya %33 transgenik mısır veya %11 transgenik mısır+%22 kontrol mısırı (DKC46-26) içeren yem verilmiştir. Çalışma süresince hayvanlar görünüm, hastalık oranı ve mortalite yönünden günlük; canlı ağırlıkları, fiziksel görünüşleri ve yem tüketimleri yönünden de haftalık olarak kontrol edilmişlerdir. Serum ve idrar biyokimyasal parametreleri ile hematolojik değerleri içeren klinik patolojik ölçümler ise denemenin sonunda yapılmıştır. Ayrıca hem makroskopik hem de histopatolojik muayeneleri içeren tam bir nekropsi de yapılmıştır.

EFSA (2005) raporunda bu çeşitle ilgili olarak Sprague Dawley sıçan ırkında OECD 408 rehberine göre yapılan 90 günlük subkronik oral toksisite çalışmaları değerlendirilmiştir. Bu çalışmada her grupta 40 hayvan bulunan 3 grup (her grupta 20 erkek 20 dişi) kullanılmıştır. 90 gün boyunca hayvanlara %33 mısır içeren bir yem verilmiştir. Kontrol grubuna %33 oranında benzer bir mısır verilirken diğer 2 gruba ya %33 transgenik mısır veya %11 transgenik mısır + %22 kontrol mısırı içeren yem verilmiştir. Çalışma süresince hayvanlar görünüm ve davranışları yönünden günlük, vücut ağırlıkları ve yem tüketimleri yönünden haftalık olarak kontrol edilmişlerdir. Deney sonunda hayvanların serum ve idrar analizleri ile hematolojik değerleri içeren klinik patolojik ölçümler ve izole edilen doku ve organlar daha ileri mikroskopik tekniklerle incelenmişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre, hayvanların ortalama günlük yem tüketimi %33 transgenik mısır içeren rasyonu tüketen erkek ve dişilerde değişik haftalar boyunca önemli bir şekilde yüksek bulunmuştur. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında %11 oranında MON863xNK603 mısır içeren rasyonları tüketen erkek sıçanların ortalama kalp ağırlıkları ve kalp/beyin oranı daha düşük bulunmuş, bunun haricinde organ ağırlıklarında önemli bir farklılık bulunmamıştır. Ayrıca bu grupta canlı ağırlığa kıyasla kalp ağırlığında farklılık bulunmamıştır. Hematolojik parametrelerde, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında %11 transgenik mısır içeren rasyonları tüketen erkek sıçanlarda yalnızca ortalama alyuvar miktarında düşme ve ortalama korpuskuler hemoglobin değerinde yükselme görülmüştür. Bununla birlikte bu farklılıklar normal sınırlar içinde olduğu ve %33 oranında transgenik mısır tüketen gruplarda görülmediği için endişeye gerek olmadığı sonucuna varılmıştır. Serum biyokimyasal parametrelerinde, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında %11 transgenik mısır içeren rasyonları tüketen dişi sıçanlarda ortalama kan üre azotu değerinde yükselme görülmüştür. Bu farklılık da %33 transgenik mısır içeren rasyonları tüketen grupta olmadığından endişeye gerek olmadığı sonucuna varılmıştır. İdrar parametreleri ile makroskobik ve mikroskobik muayenelerde gruplar arasında farklılık görülmemiştir.

4.2.4. Alerji ile ilgili değerlendirmeler

4.2.4.1. Yeni ifade edilen proteinlerin alerjenitesinin değerlendirilmesi

MON863xNK603 mısırdaki ifade edilen transgenik proteinlerin muhtemel alerjenitesi ana hatlar olan MON863 ve NK603 mısırlarla ilgili olarak daha önce değerlendirilmiştir. Bunlarla ilgili yeni bir bilgi olmadığından yeniden değerlendirmeye gerek olmadığı sonucuna varılmıştır (EFSA, 2005).

4.2.4.2. Tüm genetiği değiştirilmiş bitkinin alerjenitesinin değerlendirilmesi

Mısır tozu ve mısır poleniyle ilgili çok nadiren de olsa alerjik vakalar bildirilmektedir. Mısıra gıda alerjisi çok nadir görülür (Moneret-Vautrin ve ark., 1998). Ama IgE bağlayan proteinler mısır ununda bulunmuştur (Pastorello ve ark., 2000; Pasini ve ark., 2002). Mısır alerjisi atipik hastaların çok az bir kısmında belirlenmiştir. Ayrıca deri alerji testi pozitif olan ve mısıra karşı IgE antikoruna sahip bir çok kişi solunum alerjisine maruz kalmış ve yalnızca bir kaç tanesi mısıra oral yoldan maruz kaldığında gerçek gıda alerjisi görülmüştür (Jones ve ark., 1995; Pasini ve ark., 2002). Bunun için mısır proteinlerine oral duyarlılık çok nadirdir.

4.2.5. MON863xNK603 mısırın beslenme ile ilgili değerlendirilmesi

MON863xNK603 mısırın beslenme ilgili değerlendirmeleri etlik piliçlerde yapılmıştır. Söz konusu hayvanların hızlı büyüme oranları göz önüne alındığında, yapılacak çalışmalar için duyarlı bir model olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmada, etlik piliçler %55-60 oranında mısır içeren rasyonlarla beslenmişlerdir. Test edilen mısır hattı MON863xNK603, genetiği değiştirilmemiş mısır (DKC46-26) ve transgenik olmayan 5 ticari mısır çeşidi kullanılmıştır. Hayvanların performansı (canlı ağırlığı, yem tüketimi ve mortalite) değerlendirilmiştir. Deneme sonunda kesilen hayvanlarda karkas ve tüketilebilir kısımların ağırlıkları ile göğüs

eti, but ve gövdenin kompozisyonu analiz edilmiştir. Bu parametreler arasında gruplar arasında istatistik anlamda önemli bir farklılık gözlenmemiştir (EFSA, 2005).

GENEL SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu raporda; genetiği değiştirilmiş MON863xNK603 mısır çeşidinin gıda olarak kullanımının güvenlik açısından değerlendirilmesi kapsamında, ilgili çeşidin geliştirilmesinde kullanılan gen aktarım yöntemi, aktarılan genin moleküler karakterizasyonu ve ürettiği protein, besin değeri, olası alerjik, toksik ve çevreye kaza ile yayılımı sonucu oluşabilecek riskler dikkate alınmıştır.

MON863XNK603 mısır çeşidinin elde edilmesinde kullanılan gen aktarım yöntemi ve aktarılan genlerin moleküler karakterizasyonu ile ilgili literatür incelendiğinde bilinen herhangi bir olumsuz sonuca rastlanılmamıştır. Aynı şekilde üretilen proteinlerin, yapılan biyoinformatik analizler sonucunda bilinen bir alerjen veya toksik proteinle homolojisine rastlanılmamıştır. Komitemiz, MON863XNK603 mısır çeşidinin ve ebeveynlerinin yem olarak kullanıldığı sınırlı sayıda araştırma sonuçlarında kontrolle (genetiği değiştirilmemiş mısır) karşılaştırıldığında bu ürünü içeren yemlerle beslenen hayvanlarda bazı biyokimyasal parametrelerde değişikliklerin ortaya çıkmasının önemli olabileceği kanaatine varmıştır.

Ayrıca MON863XNK603 mısır çeşidinin, içerdği *nptII* geninin [aph(3')-IIa] fonksiyonu olan kanamisin ve neomisin direnci, üzerinde önemle durulması gereken bir konudur. Kanamisin ve neomisin, insan ve hayvan sağlığı bakımından önemli problemlerin çözümünde kullanılan antibiyotiklerdir. Söz konusu antibiyotikler, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Dünya Hayvan Sağlığı Organizasyonu (OIE) tarafından insan ve hayvan sağlığı açısından yayınlanan listede kritik antibiyotikler olarak yer almaktadır.

Ülkemizde 5977 sayılı kanun kapsamında genetiği değiştirilmiş çeşitlerin yetiştirilmesi yasak olmakla birlikte, ithalatı istenen MON863XNK603 mısır çeşidi tanelerinin amaç dışı çevreye dağılması veya olası kaçak ekimler nedeniyle gen kaçışı riski göz önünde bulundurulmalıdır.

Bilimsel Risk Değerlendirme Komitesi 27.03.2012 tarihinde Biyogüvenlik Kurulu Başkanlığı'ndan değerlendirmeye aldığı transgenik mısır çeşitlerini üreten firma tarafından yaptırılan ve EFSA'ya sunulan bilimsel çalışmalara ait dökümanları istemiştir. Söz konusu dökümanlar temin edilemediği için Komite konuya ilişkin görüş oluşturmakta güçlüklerle karşılaşmıştır.

Komite, raporda belirtilen bilimsel doküman ve veriler ışığında yapılan değerlendirmelere dayanarak, MON863xNK603 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 MON863xNK603 mısır çeşidinden üretilecek olan yüksek oranda rafine edilmiş doğal ve modifiye nişasta, dekstrin, glikoz, fruktoz, 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. MON863xNK603 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. MON863xNK603 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 MON863xNK603 mısır çeşidi tanelerinin, taşınma, depolama ve işleme gibi süreçler sırasında amaç dışı çevreye dağılması ve olası kaçak ekimler nedeniyle gen kaçışı riskinin olabileceği göz önünde bulundurulmalı, bu nedenle ithaline izin verilmesi durumunda yetkili kuruluşlar tarafından izlenmelidir.

KAYNAKLAR

Ahmad, A., Wilde, G., E., Zhu, K., Y. (2005). Detectability of Coleopteran-specific Cry 3Bb1 protein in soil and its effect on non-target surface and below-ground arthropods. *Environmental Entomology*, 34: 385-394.

Anonim (2003a). Assessment Report of the Robert Koch Institut in accordance with directive 2001/18/EC 8 April 2003. Insect-resistant maize MON863 and MON863XMON810.

Anonim (2003b). Biotechnology Consultation Note to the File BNF No. 000075, U. S. Food and Drug Administration Center for Food Safety and Applied Nutrition Office of Food Additive Safety December 31, 2001 (Ref: 5-bnfM075.pdf)

Anonim (2003c). Application for authorization of MON863×NK603 maize in the European Union, according to Regulation (EC) No 1829/2003 on genetically modified food and feed. http://www.gmo-compass.org/pdf/regulation/maize/MON863xNK603maize_application.pdf

Anonim (2011). http://www.cera-gmc.org/?action=gm_crop_database&mode=ShowProd&data=mon863 (Erişim: 24.09.2011).

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

Bennett, P.M., Livesey, C.T., Nathwani, D., Reeves, D.S., Saunders, J.R., Wise, R. (2004). An assessment of the risks associated with the use of antibiotic resistance genes in genetically modified plants: report of the Working Party of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy. *J. Antimicrob. Chemother.*, 53: 418-431. <http://jac.oupjournals.org/cgi/reprint/53/3/418.pdf>.

Chrenkova, M., Vasicek, D., Sochova, P., Vasickova, K., Chrastinova, L., Ceresnakova, Z., Sommer, A. (2005). Nutritional assessment and fate of DNA of round up ready maize using rats. *Archiva Zootechnica*, 8: 148-157.

Deng, M.Y., Lirette, R.P., Cavato, T.A., Sidhu, R.S. (1999). Molecular characterization of Roundup Ready corn line. NK603 Monsanto Technical Report MSL-16214, St Louis.

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.

Doull, J., Gaylor, D., Greim, H.A., Lovell, D.P., Lynche, B., Munro, I.C. (2007). Report of an Expert Panel on the reanalysis by Se'ralini et al. (2007) of a 90-day study conducted by Monsanto in support of the safety of a genetically modified corn variety (MON 863). *Food and Chemical Toxicology*, 45: 2073-2085.

Dunlap, F.G., White, P.J., Pollak, L.M., (1995). Fatty acid composition of oil from exotic corn breeding materials. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 72: 989-993.

EFSA (2003a). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the Notification (Reference CE/ES/00/01) for the placing on the market of herbicide-tolerant genetically modified maize NK603, for import and processing, under Part C of Directive 2001/18/EC from Monsanto (Question No EFSA-Q-2003-003). *EFSA Journal*, 10: 1-13. http://www.efsa.eu.int/science/gmo/gmo_opinions/176/opinion_gmo_03_final_en1.pdf

EFSA (2003b). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the safety of foods and food ingredients derived from herbicide-tolerant genetically modified maize NK603, for which a request for placing on the market was submitted under Article 4 of the Novel Food Regulation (EC) No 258/97 by Monsanto (Question No EFSA-Q-2003-002). *EFSA Journal*, 9: 1-14. http://www.efsa.eu.int/science/gmo/gmo_opinions/177/opinion_gmo_02_final_en1.pdf

EFSA (2004a). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the Notification (Reference C/DE/02/9) for the placing on the market of insectprotected genetically modified maize MON 863 and MON 863 x MON 810, for import and processing, under Part C of Directive 2001/18/EC from Monsanto (Question No EFSA-Q-2003-089) Opinion adopted on 2 April 2004. *The EFSA Journal*, 49: 1-25. http://www.efsa.eu.int/science/gmo/gmo_opinions/381/opinion_gmo_06_en1.pdf

EFSA (2004b). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the safety of foods and food ingredients derived from insect-protected genetically modified maize MON 863 and MON 863 x MON 810, for which a

request for placing on the market was submitted under Article 4 of the Novel Food Regulation (EC) No 258/97 by Monsanto (Question No EFSA-Q-2003-121). EFSA Journal, 50: 1-25. http://www.efsa.eu.int/science/gmo/gmo_opinions/383/opinion_gmo_07_en1.pdf

EFSA (2004c). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on the use of antibiotic resistance genes as marker genes in genetically modified plants. (Question No EFSA-Q-2003-109) The EFSA Journal, 48: 1-18.

EFSA (2005). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on an application (reference EFSA-GMO-UK-2004-06) for the placing on the market of insect-protected glyphosate-tolerant genetically modified maize MON 863 x NK603, for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Monsanto, The EFSA Journal, 255: 1-21.

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.

http://www.efsa.europa.eu/etc/medialib/efsa/science/gmo/statements/npt2.Par.0001.File.dat/gmo_statement_%20nptII.pdf

EFSA (2008). Scientific Opinion of the Panel on Genetically Modified Organisms on application (Reference EFSA-GMO-UK-2005-20) for the placing on the market of the insect-resistant and herbicide-tolerant genetically modified maize 59122 x NK603, for food and feed uses, and import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Pioneer Hi-Bred International, The EFSA Journal, 874:1-34.

EFSA (2009a). Statement of EFSA on the consolidated presentation of the joint Scientific Opinion of the GMO and BIOHAZ Panels on the “Use of Antibiotic Resistance Genes as Marker Genes in Genetically Modified Plants” and the Scientific Opinion of the GMO Panel on “Consequences of the Opinion on the Use of Antibiotic Resistance Genes as Marker Genes in Genetically Modified Plants on Previous EFSA Assessments of Individual GM Plants”. The EFSA Journal, 1108: 1-8.

EFSA (2009b). Scientific Opinion of the Panel on Genetically Modified Organisms on applications (EFSA-GMO-NL-2005-22 and EFSA-GMO-RX-NK603) for the placing on the market of the genetically modified glyphosate tolerant maize NK603 for cultivation, food and feed uses and import and processing, and for renewal of the authorisation of maize NK603 as existing product. The EFSA Journal, 1137: 1-50.

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). <http://faostat.fao.org/site/567>.

George, C., Ridley, W.P., Obert, J.C., Nemeth, M.A., Breeze, M.L., Astwood, J.D. (2004). Composition of grain and forage from corn rootworm-protected corn event MON 863 is equivalent to that of conventional corn (*Zea mays* L.). J. Agric. Food Chem., 52: 4149–4158.

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 and Chemical Toxicology, 44: 147–160.

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.
- Hyun, Y., Bressner, G.E., Fischer, R.L., Miller, P.S., Ellis, M., Peterson, B.A., Stanisiewski, E.P., Hartnell, G.F.** (2005). Performance of growing-finishing pigs fed diets containing YieldGard Rootworm corn (MON 863), a nontransgenic genetically similar corn, or conventional corn hybrids. *J. Anim. Sci.*, 83:1581–1590.
- Jones, S.M., Magnolfi, C.F., Cooke, S.K., Sampson, H.A.** (1995). Immunologic cross-reactivity among cereal grains and grasses in children with food hypersensitivity. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 96(3): 341-351.
- Kharazmi, M., Hammes, W.P., Hertel, C.** (2002). Construction of a marker rescue system in *Bacillus subtilis* for detection of horizontal gene transfer in food. *Syst. Appl. Microbiol.*, 25(4):471-477.
- Kharazmi, M., Sczesny, S., Blaut, M., Hammes, W.P., Hertel, C.** (2003) Marker rescue studies of the transfer of recombinant DNA to *Streptococcus gordonii* in vitro, in foods and gnotobiotic rats. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69(10):6121-6127.
- Kırtok, Y.** (1998). Mısır Üretimi ve Kullanımı. Ç.Ü. Zir. Fak. Tarla Bitkileri Bölümü. Kocaeluk Basım ve Yayınevi, Tarsus.
- Kim, J.H., Seo, Y.J., Kim, J.Y., Han, Y.S., Lee, K.S., Kim, S.A., Kim, H.N., Ahn, K., Lee, S.I., Kim H.Y.** (2009) Allergenicity Assessment of Cry Proteins in Insect-resistant Genetically Modified Maize Bt11, MON810, and MON863. *Food Science and Biotechnology* 18: 1273-1278.
- Krogh, H., Griffiths, B.** (2007). ECOGEN–Soil ecological and economic evaluation of genetically modified crops. *Pedobiol.*, 51: 171-173.
- Kurt, O.** (2011). Bitki Islahı. Ondokuzmayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi. Yayın No : 43.
- Lutz, B., Wiedemann, S., Einspanier, R., Mayer, J., Albrecht, C.** (2005). Degradation of Cry1Ab protein from genetically modified maize in the bovine gastrointestinal tract. *Agric. Food Chem.*, 53(5): 1453-1456.
- Moneret-Vautrin, D.A., Kanny, G., Beaudouin, E.** (1998). L'allergie alimentaire au maïs existe-t-elle? *Allerg. Immunol.*, 30(7): 230.
- 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. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 56: 306–311.
- Nap, J.P., Bijvoet, J., Stiekema, W.J.** (1992). Biosafety of kanamycin-resistant transgenic plants: an overview. *Transgenic Res.*, 1: 239-249.
- 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.
- Pasini, G., Limonato, B., Curioni, A., Vincenti, S., Cristaudo, A., Cantucci, B., Dal BelinPeruffo, A., Giannattasio, M.** (2002). IgE-mediated allergy to corn: a 50 kDa protein, belonging to the Reduced Soluble Proteins, is a major allergen. *Allergy*, 57(2): 98–106.

Pastorello, E., Farioli, F., Pravettoni, V., Ispano, M., Scibola, E., Trambaioli, C., Giuffrida, M., Ansaloni, R., Godovac-Zimmermann, J., Conti, A. (2000). The maize major allergen, which is responsible for food-induced allergic reactions, is a lipid transfer protein. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 106(4): 744-751.

Redenbaugh, K., Hiatt, W., Martineau, B., Lindemann, J., Emlay, D. (1994). Aminoglycoside 3'-phosphotransferase II: review of its safety and use in the production of genetically engineered plants. *Food Biotech.*, 8:137-165.

Ridley, W.P., Harrigan, G.G., Breeze, M.L., Nemeth, M. A., Sidhu, R.S., Glenn, K.C. (2011). Evaluation of compositional equivalence for multitrail biotechnology crops, *J. Agric. Food Chem.*, 59: 5865–5876.

Seralini, G.E., Cellier, D., 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(4): 596-602.

Vendomois, J.S., Roullier, F., Cellier, D., Seralini, G.E. (2009). A Comparison of the effects of three gm corn varieties on mammalian health. *Int. J. Biol. Sci.*, 5(7): 706-726.