

# GIDA AMAÇLI KULLANILMAK İSTENEN GENETİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ MON863xMON810xNK603 MISIR ÇEŞİDİ VE ÜRÜNLERİ İÇİN BİLİMSEL RİSK DEĞERLENDİRME RAPORU

## RAPORUN HAZIRLANIŞ GEREKÇESİ VE DAYANAKLARI:

Bu rapor, genetik olarak değiştirilmiş MON863xMON810xNK603 kodlu mısır çeşidinin doğrudan tüketimi ve bu çeşitten üretilecek gıda amaçlı ürünler (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 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 MON863xMON810xNK603 mısır çeşidi ile ilgili ithalatçı firma tarafından dosyada sunulan 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 KURULUŞLAR:

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:

MON863xMON810xNK603 mısır çeşidi, Monsanto firması tarafından 3 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*, MON810 *Bacillus thuringiensis* bakterisinden Lepidoptera takımından zararlı mısır kurdu (*Ostrinia nubilalis*) ve mısır koçan kurdu (*Sesamia* spp.) na etkili *cry1Ab*, NK603'den de glifosat herbisitine toleransı sağlayan *CP4 epsps* genlerini taşımaktadır. Adı geçen 3 farklı çeşit mümkün olabilen 3 kombinasyon içinde (MON863xMON810, MON810xNK603, MON863xNK603) şeklinde ikili melezlenmesi sonucu oluşan hatlar (çift melez döller) birbirleriyle melezlenerek MON863xMON810xNK603 mısır çeşidi elde edilmiştir. MON863xMON810xNK603 mısır çeşidini oluşturan ebeveynlerle ilgili veriler her bir çeşit ile ilgili olarak hazırlanan raporlarda ayrıntılı olarak verilmiştir.

## RİSK ANALİZİ VE DEĞERLENDİRMESİ:

MON863xMON810xNK603 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 kaçışı 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, FDA, OECD, EPA, EPPO) raporları ve bilimsel araştırmaların sonuçları (alerjik ve toksik etki analizleri, genetik değişimin 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 MON863xMON810xNK603 mısır çeşidi ile yapılan hayvan besleme çalışmalarının 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

MON863xMON810xNK603 transgenik mısır çeşidi, genetik olarak değiştirilmiş YieldGard® Rootworm mısır (MON 863), YieldGard® Corn Borer mısır (MON810) ve Roundup Ready® mısır (NK603) çeşitlerindeki özelliklerinin klasik ıslahı ile birleştirilmesi sonucu Monsanto firması tarafından oluşturulmuştur. Bu çeşidin oluşturulmasında ilave bir genetik modifikasyon yapılmamıştır.

MON863 mısır çeşidi, bazı kınkanatlı böcek zararlılarına (corn rootworm; *Diabrotica* spp.) karşı koruma sağlayan, yaban tipi *cry3Bb1* geninden değiştirilerek oluşturulan *cry3Bb1* genini içermektedir. Gen *B. thuringiensis* subsp. *kumamotoensis* bakterisinden alınmış ve PV-ZMIR13 plazmit vektörü içinde yapılandırılmıştır. MON863 çeşidine gen aktarımı partikül bombardımanı ile yapılmıştır. MON863 çeşidinde bulunan diğer gen aminoglikozit grubu antibiyotikleri (kanamisin ve diğerleri) fosforilasyon ile inaktive ederek direnç sağlayan ve seçici markör olarak kullanılan *nptII* (neomisin fosfotransferaz type II) genidir ve *Escherichia coli* Tn5 transpozonundan aktarılmıştır (EFSA 2004a).

Yapılan biyoinformatik analizler aktarılan DNA parçası ve bitki DNA arasında her iki 5' ve 3' ucunda mitokondrial DNA'nın varlığını göstermiştir. EFSA (2005) raporu kromozomal bitki genomunda organel ile ilgili DNA'nın mevcut olduğunu yada transformasyon sırasında geçtiğini bunun da doğal bir olay olduğunu bildirmektedir. Bu DNA ile ilgili anlamlı diziler (ORF-open reading frame) analiz edilmiş ve oluşacak peptidin bilinen alerjen, toksin veya diğer proteinlerle bir homoloji oluşturmadığı bu nedenle de sağlık açısından bir sorun yaratmayacağı kanısına varılmıştır (EFSA, 2005).

MON810 çeşidinde bulunan *cry1Ab* geni, *Lepidoptera* takımı böceklerle karşı toksik etkilidir ve gram pozitif özellikte adı geçen zararlılara etkili olan *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* bakterisinden alınarak, PV-ZMBK07 plazmit vektöründe yapılandırılmıştır. Bu transgenik çeşidin oluşturulmasında partikül bombardımanı kullanılmıştır. Söz konusu *Cry1Ab* proteininin böcek öldürücü etkisinin, mısır ekimi çok fazla yapılan ABD'de *Lepidoptera* takımından farklı böceklerle (*Ostrinia nubilalis*, *Diatraea grandiosella*, *Diatraea cramboides*, *Diatraea saccharalis*, *Helicoverpa zea*, *Spodoptera frugiperda*, ve *Papaipema nebris*) karşı da etkili olduğu bilinmektedir (EFSA 2003a, 2005).

NK603 çeşidi, PV-ZMGT32 plazmidinin *MluI* enzimi ile kesimi sonrası jelden izole edilen ve *Agrobacterium* CP4 suşunun (*cp4 epsps*) *epsps* geni içeren parçasının mısıra partikül bombardımanı ile aktarımı sonucu oluşturulmuştur. NK603 çeşidi, PV-ZMGT32 plazmidinin *MluI* enzimi ile kesimi sonrası jelden izole edilen ve *Agrobacterium* CP4 suşunun (*cp4 epsps*) *epsps* geni içeren parçasının mısıra partikül bombardımanı ile aktarımı sonucu oluşturulmuştur. Gen glifosat herbisitine karşı tolerans sağlamaktadır. NK603 çeşidinde aktarılan *cp4 epsps* geni yanısıra kloroplast DNA'sına ait bir parçacığın varlığı da saptanmıştır. Ancak EFSA (2005) raporunda bu kloroplasta ait DNA'nın varlığının yeni bir özellik katmayacağı ve güvenlik açısından sorun yaratmayacağını belirtmiştir. Yapılan biyoinformatik analizler sonrası aktarılan gen parçasının bilinen toksik ve alerjenler ile homoloji oluşturmadığı ifade edilmiştir (EFSA, 2005).

## 1.2. Aktarılan genlerin moleküler yapı, ekspresyonu ve kararlılık analizleri

MON863xMON810xNK603 mısır çeşidi ile yapılan Southern blot analizleri, aktarılan ilgili genlerin tek bir çeşitte toplandığını doğrulamıştır. MON863 çeşidine ait yabancı genin varlığı, *EcoRV* enzim kesimi sonrası yapılan hibritlemede Cry3Bb1 probunun kullanımı sonucu 10 kb'lik bir parçanın belirlenmesi ile doğrulanmıştır. MON810 çeşidinden aktarılan yabancı genin varlığı ise *EcoRI* ve *NcoI* kesimi sonrası yapılan hibritlemede Cry1Ab probunun kullanımı sonucu 2.8 kb'lik bir parçanın belirlenmesi ile doğrulanmıştır. NK603'e ait yabancı bölgenin varlığı ise *EcoRV* enzim kesimi sonrası yapılan hibritlemede ctp2-cp4-epsps probu kullanımı sonucu 2.8kb ve 3.8kb'lik parçaların belirlenmesi ile doğrulanmıştır. İlgili özelliklerin varlığının nesillerde korunması ile ilgili yapılan çalışmalar, yabancı genlerin ilgili transgenik mısır çeşidinde kararlı bir şekilde korunduğunu göstermiştir.

MON863xMON810xNK603 mısır çeşidine ait tohumlarda bulunan Cry3Bb1, Cry1Ab, Cp4 epsps protein seviyeleri immünokimyasal analizler ile belirlenmiş, MON863, MON810 ve NK603 çeşitlerinde bulunan protein seviyeleri ile benzer olduğu bildirilmiştir. (MON863xMON810xNK603 mısır çeşidinde NptII protein miktarının tespit edilebilir seviyede olmadığı belirlenmiştir.) EFSA raporunda ise Cry3Bb1, Cry1Ab, Cp4 epsps ve NptII proteinleri ile ilgili değerlendirmeler daha önceki çalışmalarda, ilgili çeşitlerde ayrı ayrı yapılmış ve olumlu görüşler belirtilmiştir (EFSA, 2005).

MON863xMON810xNK603 mısır çeşidi üç farklı transgenik mısır çeşidinin klasik olarak hibritlenmesi ile oluşturulmuş ve her çeşide ait olan yabancı gen MON863xMON810xNK603 F1 mısır hibrit tohumlarında gözlenmiştir. Aktarımı yapılan yabancı genler Mendel kurallarına uygun olarak, tek dominant gen olarak aktarılmıştır ve bu Southern blot analizi ile doğrulanmıştır (CERA,2011). MON863xMON810xNK603 çeşidinde ve ebeveyn mısırlardaki (MON863, MON810 ve NK 603) proteinlerin ifade düzeyleri (Cry3Bb1, Cry1Ab, Cp4 epsps ve NptII) tarla denemeleri yapılarak elde edilen tanelerde araştırılmış NptII dışında diğer proteinlerin düzeyinin değişmeden kaldığı ancak NptII'nin MON863xMON810xNK603 ve MON863 de tespit edilemeyecek düzeyde olduğu bildirilmiştir (EFSA, 2005).

## 2. Kimyasal Bileşim ve Tarımsal Özelliklerin Risk Analizi

### 2.1. Kimyasal bileşim analizi

#### MON863

Tarla denemelerinde elde edilen MON863 mısır çeşidi, transgenik olmayan mısır (MON846) ve ticari mısır melezlerinin tane ve hasılında kimyasal analizler gerçekleştirilmiştir. Karşılaştırmalarda, MON863 mısır ve kontrolü 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).

#### MON810

MON810 mısır çeşidi ile yapılan tarla denemeleri sonucu elde edilen mısır tanelerinde besin madde analizlerinden 8 amino asit, ham selüloz, kalsiyum ve  $\beta$ -tokoferol seviyeleri kontrol mısıra (MON818) göre MON810 mısırdaki 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) literatürde bildirilenlere göre daha yüksek, kalsiyum düzeyleri ise literatürde rapor edilen seviyelerin altında saptanmıştır (EFSA, 2009).

Farklı bölgelerde ve farklı yıllarda yapılan tarla denemelerinde elde edilen MON810 mısır çeşidinin besin madde analizlerinde, kontrol (MON820) mısır çeşidi tanelerine göre nem ve palmitik asit içeriği artarken, metiyonin ve triptofan düzeyleri azalmıştır. Hasıl mısırdaki ise ham protein düzeyinde artış gözlenmiştir. Sonuç olarak, MON810 mısır çeşidinin, genetiği değiştirilmemiş izogeniği ve geleneksel mısır çeşitleriyle karşılaştırıldığında benzer kompozisyonda olduğu ifade edilmiştir (EFSA, 2009).

## **NK603**

Değişik dönemlerde yapılan tarla denemelerinden elde edilen NK603 mısır 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. Bu analizler sonucunda, NK603 mısır çeşidi ile genetiği değiştirilmemiş izogeniği arasında farklılıklar gözlenirse de, bu farklılıkların doğal biyolojik değişim sınırları içinde kaldığı ifade edilmiştir (EFSA, 2003 b).

## **MON863xMON810xNK603**

Tarla denemeleri, Arjantin'de tek bir sezonda (2002-2003) iki farklı coğrafi bölgede dört farklı yerde ve üç tekrarlamalı olarak yapılmıştır. MON863xMON810xNK603 mısır hibritler ve transgenik olmayan kimyasal bileşim analizleri yapılmıştır. Tahıl örneklerinde protein, yağ, kül, nem, asit deterjan lif (ADF), nötr deterjan lif (NDF), total diyet lifi (TDF), amino asitler, yağ asitleri, mineraller (kalsiyum, bakır, demir, magnezyum, manganez, fosfor, potasyum, sodyum ve çinko), vitaminler (B1, B2, B6, E, niacin ve folik asit), fitik asit, rafinoz ve ikincil metabolitler (furfural, ferulik asit ve p-kumarik asit). Mısır hasıllarında protein, yağ, kül, nem, ADF, NDF, mineraller (kalsiyum, fosfor) karbonhidrat değerleri belirlenmiştir. Elde edilen değerler OECD tarafından uluslararası kabul görmüş rehberlik değerleriyle karşılaştırılmıştır.

MON863xMON810xNK603 mısır ve kontrolünden elde edilen tanelerin kimyasal bileşimleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlenmiştir. Ancak bu farklılıklar, tutarlı bulunmamıştır. Tutarlı farklılıklar sadece oleik asit, linoleik asit ve niacin içeriğinde gözlenmiştir. Örneğin, oleik asit düzeyleri kontrol mısır tanelerinde toplam yağ asitlerinin %29,48'i iken, MON863xMON810xNK603 mısırdaki %31,73'e yükselmiştir. Bu değerlerin ticari mısır çeşitleri için elde edilen (%22,02-35,24) aralıklar içinde olduğu görülmektedir. Linoleik asit değerleri kontrol mısırdaki %53,06 iken, MON863xMON810xNK603 mısırdaki %50,63'e düşmüştür. Ticari mısır çeşitlerindeki linoleik asit aralığı içinde (% 48,77-62,71) yer aldığı gözlenmiştir. Niasin düzeyleri, kontrol mısırdaki 20,81 mg/kg KM, bulunurken, MON863xMON810xNK603 mısırdaki 18,13 mg/kg KM'ye azaldığı bulunmuştur. Bu değerlerin ticari mısır çeşitlerinden elde edilen (18,23 –31,02 mg/kg, KM), önceki saha denemelerinden elde edilen (14,1 - 36,3 mg/kg KM) ve literatürde bildirilen (9,3 - 70 mg/kg KM) aralıklar içinde olduğu gözlenmektedir. Buna ek olarak, Dunlap ve ark, (1995) tarafından da mısır tanelerindeki yağ asidi kompozisyonunun, mısır çeşitleri arasında, özellikle genetik faktörler nedeniyle önemli ölçüde değişebileceği bildirilmektedir. Bu nedenle MON863xMON810xNK603 mısırdaki analiz sonuçları arasındaki küçük farklılıkların biyolojik açıdan anlamlı olmadığı bildirilmiştir (EFSA, 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 elde edildiği için, bu yeni çeşitlerde sadece amaca, yani hastalığa/ böceklere/ yabancı otlara dayanıklılık bakımından değişiklik meydana gelmektedir. Dolayısıyla yapılan araştırmaların sonucu; önemli tarımsal özellikler (tohum ve çiçek morfolojisi, bitki boyu, vejetasyon süresi vb.) bakımından böceklere ve herbisitlere dayanıklılık geni aktarılmış olan MON863xMON810xNK603 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; MON863xMON810xNK603 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 karışarak kış koşullarını atlatıp, ilkbaharda çimlenip neslini devam ettirme şansı da bulunmamaktadır. Koçan üzerinden dökülen mısır tanelerinin de hayatta kalması 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 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 MON863xMON810XNK603 mısır çeşidi kültüre alınmasa da kontrol edilemeyen faktörler sebebiyle yerli çeşitlere ve lokal popülasyonlara polen kaçışı riskini çok az da olsa potansiyel olarak taşımaktadır. Ülkemizde GD bitkilerin yetiştirilmesi kanunen yasak olduğundan çevresel risk değerlendirmeleri; MON863xMON810XNK603'in kullanımı dikkate alınarak hayvan yemi olarak tüketimi sonrası sindirim sisteminden başlayıp dışkı ve gübre şeklinde çevreye bırakılması şeklinde ve GD ürününün taşınması ve işlenmesi esnasında kazayla çevreye yayılma riskleri ile sınırlı tutulmuştur.

### 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 geçişi, dolayısıyla gen akışı doğal bir süreçtir. Türkiyede GD mısırdan gen kaçışı olasılığını sınırlandıran faktörler:

- GD ürün tarımının Türkiye'de kanunlarla yasaklanmış olması,
- Türkiye'nin mısır bitkisinin gen merkezi olmaması,
- 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 MON863xMON810xNK603 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 kültürüne alındığında belirli böceklerle ve herbisitlere karşı dayanıklılık geni içermesi, herbisit ve insektisit kullanılması sonucu yabancı otlarla ve böceklerle mücadele açısından mısır yetiştiriciliğinde önemli bir avantaj sağlamaktadır. Ancak GD mısır, herbisite ve böceklerle 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 MON863xMON810xNK603 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 çeşitin doğada kalabilme, kışı geçirebilme gibi farklı bir özellik taşımasına yönelik herhangi bir bulguya da rastlanmamıştır.

### 3.2.2. Bitkiden bakteriye gen transferi

Doğal koşullarda GD bitkilerden bakterilere gen transferi mikroorganizmalar arasında homolog rekombinasyonlar olması dışında hemen hemen imkansız görülmektedir. Çeşidin taşıdığı *cry3Bb1*, *nptII*, *cry1Ab* ve *cp4 epsps* genleri prokaryotik organizmalarda çok sınırlı bir aktiviteye sahip ökaryotik promotörlerin kontrolü altındadır. Ayrıca GD bitkilerde ifade edilen bu genetik özellikleri taşıyan genler doğal olarak mikroorganizmalarda da yaygın olarak bulunmaktadır (EFSA, 2004d).

MON863xMON810xNK603 mısır çeşidi içerisinde MON810'dan gelen *cry1Ab* geni hedef böceklerle toksisiteyi artırmak amacıyla amino asit dizisi değiştirilmiş Cry1Ab proteinini kodlamaktadır. Bu değiştirilmiş genin sindirim sistemi, dışkı veya topraktaki bakterilere olası transferi gerçekleştiğinde oluşturulan toksin açısından bu mikroorganizmalara daha yüksek bir rekabet gücü kazandırması ve belirli çevrelerde ekolojik açıdan olumsuz bir etki yaratması olasıdır (EFSA, 2005).

MON863 mısır hattı ise neomisin fosfotransferaz II enzimini kodlayan bütünlüğünü kaybetmemiş *nptII* genini taşımaktadır. Bu gen MON863 çeşidinin oluşturulması sırasında seçici markör olarak kullanılmıştır. Bu MON863xMON810xNK603 mısır çeşidinde de mevcuttur. Yapılan incelemeler (EFSA, 2004c) *nptII* seçici 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 (Bennett et al., 2004) çok düşük bir risk oluşturduğu temeline dayanmaktadır.

*nptII* geni geçmişte emniyetle kullanımı kanıtlanmış ve iyi bir seçici markör olmasına karşın (Nap et al., 1992; Redenbaugh et al., 1994), son yıllarda yapılan plazmit markör kurtarma çalışmaları *in vitro* ortamda *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. Hedef olmayan organizmalar ile etkileşim potansiyeli

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 göstermektedir (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).

Sonuç olarak MON863xMON810xNK603 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. Bu koşullar altında potansiyel olarak duyarlı olan hedef dışı organizmaların bu proteinlere maruz kalma olasılığı düşüktür .

#### **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 MON863xMON810xNK603 mısırla beslenen laboratuvar hayvanları ile et, süt ve yumurta üretiminde kullanılan hayvanlarla yapılan çalışmalar dikkate alınarak yapılmıştır.

##### **4.1. İşlemenin etkisi**

Mısır yaş ve kuru öğütme işlemleri kullanılarak, gıda, yem maddeleri veya katkı maddesi olarak kullanılan çok çeşitli ürünlerine dönüştürülmektedir. MON863xMON810xNK603 mısırın yem üretim ve işleme etkilerinin geleneksel mısırdan üretilenlerden herhangi bir farkının olması beklenmemektedir.

##### **4.2. Toksikolojik değerlendirmeler**

###### **4.2.1. İfade edilen yeni proteinlerin toksikolojik değerlendirmesi**

###### **MON863**

EFSA (2005) panel raporunda yer alan veri ve değerlendirmelere göre MON863 çeşiti ile yapılan 90 günlük subkronik sıçan besleme çalışmasında söz konusu mısırın tüketilmesiyle ilgili ters bir etki oluşmadığı bildirilmiştir. Panel raporunda, Cry3Bb1 proteinin indirekt olarak düşük olasılıkla alerjik etki yaratabilmesi ya da tüm bitkinin alerjik etkisi dışında doğrudan alerjik bir risk yaratmayacağı belirtilmiştir. Aynı raporda MON863 mısırının etlik piliçler ile yapılan besleme çalışmalarında da olumsuz bir etkiye neden olmadığı ifade edilmiştir. Ayrıca MON863 mısırın besleyici özelliklerinin, geleneksel olarak yetiştirilen mısırın besleyici özelliklerinden farklı olmadığı rapor edilmiştir (EFSA, 2004a, b).

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 dışılarda 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)'ı 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**

Genetik olarak değiştirilmiş olan NK603 mısır çeşidi farklı promotörler ile *cp4 epsps* geninin birbirinden sadece bir amino asit farklılığı olan 2 değişik *cp4 epsps* proteinini oluşturmaktadır. Yapılan biyoinformatik analizler ve deneysel hayvanlarla yapılan besleme denemeleri bu küçük değişikliğin protein yapısında, toksisitesinde ve alerjenitesinde bir değişiklik oluşturmadığını göstermiştir (EFSA, 2005). Ayrıca EFSA panel raporunda 90 günlük subkronik sıçan besleme çalışmalarını da içeren hayvan besleme çalışmaları sonrası, NK603'ün genetiği değiştirilmemiş eşdeğeri kadar güvenli olduğunu bildirmiştir. ABD ve Avrupa'daki tarla çalışmalarından alınan tohum analizleride NK603'ün genetiği değiştirilmemiş benzerleriyle aynı bileşime sahip olduğunu göstermiştir (EFSA, 2003a, b).

Yukarıda belirtilen Vendemois 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.

### **MON810**

Cry1Ab proteininin akut toksisitesinin olmadığı ve MON810 mısırın tüketimine yönelik 90 günlük subkronik sıçan besleme çalışmaları sonrası olumsuz bir etki yaratmadığı belirtilmiştir (EFSA, 2005). EFSA paneline sunulmuş olan bu raporda yürülmüş olan toksikolojik çalışmanın iyi planlandığı ve istatistik olarak uygun şekilde dizayn edildiği sonucuna varılarak MON810'daki bu değişikliğin herhangi bir alerjenite oluşturmadığı ve olumsuz bir etki yaratmadığı sonucuna varılmıştır. MON810 ile ilgili etlik piliç besleme çalışmalarında da olumsuz bir etki görülmemiş olup değerlendirme sonrası MON810 mısır çeşidinin beslenme özellikleri açısından genetiği değiştirilmemiş izogeniğinden farklı olmadığı ifade edilmiştir (SCP 1998a, b, EFSA 2004a, b).

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, sonuç olarak 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. Domuzları içerisinde %38.9 oranında GD içeren ve hiç GD içermeyen izogenik mısır hatlarından oluşan bir yem ile 31 gün süre beslemişlerdir. Bu sürenin sonunda, GD mısır ile beslenmiş domuzlarda periferik mononükleer kan hücrelerinden IL-12 ve IFN $\gamma$  üretiminin arttığı 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<sup>+</sup>T oranının azaldığı gözlenmiştir. GD mısır ile beslenmiş domuzlarda ayrıca, ince bağırsakta B hücreleri ve makrofajların oranları azalırken CD4<sup>+</sup>T oranı 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 rasyonla 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 beslemişlerdir. 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 izogenik eşdeğerleri ile 5 ve 14 haftalık besleme sonrasında idrar ve serum değerlerini almış ve organ başına yaklaşık 60 farklı biyokimyasal parametre incelemişlerdir.

Özellikle MON810 mısır çeşidi ile beslenen sıçanların kan hücreleri, adrenal bez ve böbrek ağırlıklarının etkilendiği, kandaki azot düzeyinin arttığı ve dalağın büyüdüğü sonucuna varmışlardır. Ancak bu farklılıkların denemede kullanılan MON863'e göre daha az olduğuna dikkat çekmişlerdir.

Sagstad ve ark., (2007) GD mısırla beslenen balıkların bağırsaklarındaki süperoksit dismutaz ve katalaz enzim aktivitelerinin 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 izogenik mısırları tüketen yeni sütten kesilen 21 günlük ve 18-19 aylık yaşlı farelerde (erkek Balb/c) bağırsak ve periferal 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 periferinde 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 sütten 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 hasarın azaldığını ifade etmişlerdir. Elde edilen değişikliklerin bağışıklık sisteminin önemli bir şekilde bozulduğuna kanıt olması için daha ileri araştırmaların yapılmasını, GD bitki ve ürünlerin toksikolojik değerlendirmelerinde bağırsak ve periferal bağışıklık yanıtının dikkate alınması gerektiğini ifade etmişlerdir. Ancak araştırmacıların materyal ve metodunda belirttikleri mikotoksin (özellikle FB1 ve DON) miktarları gerek MON810 gerekse genetiği değiştirilmemiş izogeniğinde kabul edilebilir seviyenin üzerinde olduğu dikkati çekmiştir.

Adel-Patient ve ark., (2011)'nin yaptıkları bir çalışmada fareleri (Balb/c) saf Cry1Ab proteini, MON810 ve genetik olarak değiştirilmemiş izogeniği ile intra peritoneal ve intra gastrik yolla immunize etmişler, proteinlerin immunolojik ve metabolik etkilerini araştırmışlardır. Değerlendirmeler sonunda intragastrik uygulamada MON810'un GD olmayan izogeniğine 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 sıçanlarda histopatolojik ve biyokimyasal açıdan düşük düzeyde farklılıklar olduğunu, bunun 3 nesil boyunca sıçanlarda 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 ürünlerinin gıda ve yem olarak kullanıldığında GD olmayan izogeniğinden 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.

### **MON863xMON810xNK603**

CP4 EPSPS ve CP4 EPSPS L214P transgenik proteinlerin güvenliği (NK603 için) (EFSA, 2003a,b) ile Cry3Bb1 ve NptII proteinlerin güvenliği (MON863 için) (EFSA 2004a,b) EFSA tarafından, Cry1Ab proteinin güvenliği (MON810 için) (SCP 1998a, b) ise Avrupa Bitki Bilimsel Komitesi tarafından değerlendirilmiştir. Proteinlerin fonksiyonel özellikleri göz önüne alındığında ifade edilen proteinler arasında bir etkileşme olasılığı bulunmadığı sonucuna varılmıştır.

Vendomois ve ark. (2009), üç farklı GD mısır çeşidi (NK 603, MON810 ve MON863) ile yapmış oldukları çalışmada çeşitlere bağlı olarak farklılıklar görülmekle 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. Denemeler sonunda yapılan analizler bu 3 GD mısır çeşidinin tüketiminin, cinsiyet ve doza bağlı olarak yan etkileri olduğunu göstermiştir. Araştırmacılar özellikle bu 3 mısır çeşidi ile 2 yıllık uzun süreli besleme denemeleri yapılması gerektiğini ve bu denemelerde özellikle böbrek ve karaciğer üzerinde yoğunlaşılması gerektiğini bildirmişlerdir.

#### **4.2.2. Proteinler dışındaki yeni bileşiklerin toksikolojik değerlendirmesi**

Proteinler dışında yeni bileşikler olmadığı için bu değerlendirmeye gerek duyulmamıştır.

#### **4.2.3. Subkronik oral toksisite**

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 kimyası ile hematolojik değerleri içeren klinik patolojik ölçümler ve izole edilen doku ve organlar daha ileri mikroskopik tekniklerle incelenmişlerdir. Buna göre;

-Deney gruplarıyla kontroller arasında çok az sayıda farklılık elde edilmiştir. Kanda hücre sayımının sonuçları %11 transgenik mısır tüketen dişilerde nötrofillerin ortalama absolut miktarının, kontrole karşılaştırıldığında arttığını göstermiş, ama %33 transgenik mısır yiyenlerde bu farklılık görülmemiştir.

-İdrar hacmi, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında her 2 deney grubunda da düşük bulunmuştur. Erkek kontrol grubundan 10 hayvandan 3'ü yüksek idrar hacmine sahipti. Ancak bu gözleme neden olan başka özellikler gözlenmedi. Ayrıca dişi kontrol grubunda anormallikler gözlenmedi. Bu nedenle bu bulguların toksikolojiyle ilgili olamayacağı sonucuna varılmıştır.

-%11 transgenik mısır tüketen deney grubunun erkeklerinin epididimis (erbezin üstündeki oluşum) ağırlıkları, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında daha yüksek bulunmuştur. Bununla beraber %33 oranında transgenik mısır tüketenlerde farklılık görülmemiştir. Ayrıca epididimis ağırlıkları vücut ağırlığı ve beyin ağırlığıyla oranlandığında gruplar arasında farklılık gözlenmemiştir. Bu nedenle bu bulguların toksikolojiyle ilgili olamayacağı sonucuna varılmıştır.

#### **4.2.3. Allerjenite**

MON863xMON810xNK603 mısır çeşidinde ifade edilen transgenik proteinlerin muhtemel allerjenitesi ana hatlar olan MON863, MON810 ve NK603 mısırlarla ilgili olarak daha önce değerlendirilmiştir. Bunlarla ilgili yeni bir bilgi olmadığından yeniden değerlendirmeye gerek olmadığı sonucuna varılmıştır.

##### **4.2.3.1 Tüm genetiği değiştirilmiş bitkinin allerjenitesinin değerlendirilmesi**

Mısır tozu ve mısır poleniyle ilgili çok nadiren de olsa alerjik vakalar bildirilmektedir. Mısıra gıda alerjisi nadirdir (Moneret-Vautrin ve ark., 1998). Ama IgE bağlayan proteinler mısır ununda bulunmuştur (Pastorello ve ark., 2000; Pasini ve ark.,2002). Mısır alerjisi atopik hastaların çok az bir kısmında belirlenmiştir. Ayrıca deri alerji testi (SPT) 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 (Pasini ve ark.,2002; Jones ve ark.,1995). Bunun için mısır proteinlerine oral duyarlılık çok nadirdir.

##### **4.2.4. Genetiği değiştirilmiş gıdanın beslenme ile ilgili değerlendirmeleri**

MON863xMON810xNK603 mısırın beslenme ilgili değerlendirmeleri yaklaşık 6 hafta içinde tam boyuta gelmeleri ve hızlı büyüme oranlarına sahip olmaları nedeniyle etlik piliçlerde yapılmıştır. Bu denemelerde etlik piliçlere %55-60 oranında MON863xMON810xNK603, ve genetiği değiştirilmemiş mısır (DKC46-26) transgenik olmayan 5 ticari mısır içeren rasyonlar verilmiştir. Her bir yem 100 hayvan bulunan ve ayrı kafeslerde tutulan gruplara verilmiştir. Hayvanların performansı canlı ağırlığı, yem tüketimi ve mortalite değerlerine bakılmıştır. Deneme bitiminden sonra post mortem olarak karkas ve tüketilebilir kısımların ağırlıkları ile tüketilebilir kısımların kompozisyonu analiz edilmiştir. Deneme grubuyla kontrol mısırı tüketen tavukların göğüs eti ve kanat ağırlıklarının arasında önemli farklılıklar tespit edilmiştir. Ortalama göğüs eti ağırlığı MON863xMON810xNK603 tüketen hayvanlarda 0.433 kg, kontrollerde 0.455 kg olarak bulunmuştur. Kanatların kısmi ağırlıkları deneme grubunun soğuk karkas ağırlığının %11.857'si ve kontrol grubundakilerin %11.637 oranında bulunmuştur. Ancak bu farklılıklar kayda değer derecede önemli olmayıp, diğer referans hatlarla beslenen tavuklarda tespit edilmemiştir.

#### **GENEL SONUÇ ve ÖNERİLER**

MON863xMON810xNK603 mısır çeşiti herbiri 3 farklı genetik özelliğe sahip GD mısır çeşitinin klasik ıslah yöntemi ile melezlenmesi yoluyla elde edilmiştir. Bu çeşidin tüm değerlendirilmeleri mevcut literatürler ışığında hem kendisi hemde ebeveynleri dikkate alınarak yapılmıştır.

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 güçlükle karşılaşmıştır.

Ayrıca MON863XNK603 mısır çeşidinin, içerdiği *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.

Komite, raporda belirtilen mevcut bilimsel doküman ve veriler ışığında yapılan değerlendirmelere dayanarak, MON863xMON810xNK603 mısır çeşidinin doğrudan gıda amaçlı kullanımının ve işleme sırasında oluşan yan ürünlerin (kepek, mısır özü ve küspesi ve bunun gibi) gıda amaçlı kullanımının **risk taşıyabileceği görüşüne oy birliği ile varmıştır.**

Ancak doğrudan tüketimi dışında MON863xMON810xNK603 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 taşımayabileceği 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. MON863xMON810xNK603 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. MON863xMON810xNK603 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 MON863xMON810xNK603 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

- 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.
- 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.
- 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>.
- CERA**, (2011). Determination of the Safety of Monsanto's Combined trait product corn: MON 810 x NK 603 x MON 863 For Direct use Food, Feed, and Processing.
- 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
- 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.
- Dunlap, F.G., White, P.J., Pollak, L.M.**, (1995). Fatty acid composition of oil from exotic corn breeding materials. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 72, 989-993.
- EFSA**, (2003a). Application for authorization of MON 863 × MON 810 × NK603 maize in the European Union, according to Regulation (EC) No 1829/2003 on genetically modified food and feed
- 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. *The EFSA Journal*, 9, 1-14.
- 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 insect protected 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.
- 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](http://www.efsa.eu.int/science/gmo/gmo_opinions/383/opinion_gmo_07_en1.Pdf).
- EFSA**, (2004c). Guidance document of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms for the Risk Assessment of Genetically Modified Plants and Derived Food and Feed. EFSA Journal 99, 1-94. [http://www.efsa.eu.int/science/gmo/gmo\\_guidance/660\\_en.html](http://www.efsa.eu.int/science/gmo/gmo_guidance/660_en.html)
- EFSA**, (2004d). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on the use of antibiotic resistance genes as marker genes in genetically modified plants. EFSA Journal, 48, 1-18. [http://www.efsa.eu.int/science/gmo/gmo\\_opinions/384/opinion\\_gmo\\_05\\_en1.pdf](http://www.efsa.eu.int/science/gmo/gmo_opinions/384/opinion_gmo_05_en1.pdf)
- EFSA**, (2005). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on an application (Reference EFSA-GMO-BE-2004-07) for the placing on the market of insect-protected glyphosate-tolerant genetically modified maize MON863 x MON810 x NK603, for food and feed uses, and import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Monsanto1 (Question No EFSA-Q-2004-159). The EFSA Journal 256, 1-25
- EFSA**, (2007). Opinion of the Scientific Panel on genetically modified organisms on an application (Reference EFSA-GMO-NL-2005-12) for the placing on the market of insectresistant genetically modified maize 59122, for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003, from Pioneer Hi-Bred International, Inc. and Mycogen. Seeds, c/o Dow Agrosiences LLC (Reference EFSA-Q-2005-045). The EFSA Journal, 470: 1-25
- EFSA**, (2009). Applications (EFSA-GMO-RX-MON810) for renewal of authorisation 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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  $\delta$ -endotoxin from transgenic (Bt) corn (*Zea mays* L.) in soil. *Can. J. Soil Sci.*, 85: 19-26.
- 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.
- 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 Agrobiology*, 26 (1): 51-55.
- Kharazmi M, Hammes WP, Hertel C.**, 2002. Construction of a marker rescue system in *Bacillus subtilis* for detection of horizontal gene transfer in food. *Syst Appl Microbiol.* 2002 Dec;25(4):471-477.
- Kharazmi M, Sczesny S, Blaut M, Hammes WP, 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.
- 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. Kocaelik 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).
- 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.
- Moneret-Vautrin, D.A., Kanny, G., Beaudouin, E.** (1998). L'allergie alimentaire au maïs existe-t-elle? *Allerg. Immunol.*, 30(7): 230.
- Nap, J.P., Bijvoet, J. and 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.

- 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).
- 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.
- 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.
- 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.
- SCP,** (1998a). Opinion of the Scientific Committee on Plants regarding submission for placing on the market of genetically modified, insect-resistant maize lines notified by the Pioneer Genetique S.A.R.L. Company (notification No C/F/95/12-01/B). [http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scp/out\\_10\\_en.html](http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scp/out_10_en.html)
- SCP,** (1998b). Opinion of the Scientific Committee on Plants regarding the genetically modified, insect resistant maize lines notified by the Monsanto Company. [http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scp/out02\\_en.html](http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scp/out02_en.html)
- Sissener, N.H., Johannessen, L.E., Hevrøy, E.M., Wiik-Nielsen, C.R., Berdal, K.G., Nordgreen, A. and Hemre, G.I.** (2010). Zebrafish ( *Danio rerio*) as a model for investigating the safety of GM feed ingredients (soya and maize); performance, stress response and uptake of dietary DNA sequences. *British Journal of Nutrition*, 103, pp 3-15 doi:10.1017/S0007114509991401.
- 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.