

YEM AMAÇLI KULLANILMAK İSTENEN GENETİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ MON863 MISIR ÇEŞİDİ VE ÜRÜNLERİ İÇİN BİLİMSEL RİSK DEĞERLENDİRME RAPORU

RAPORUN HAZIRLANIŞ GEREKÇESİ VE DAYANAKLARI:

Bu rapor, genetik olarak değiştirilmiş MON863 kodlu mısır çeşidi ve ürünlerinin (**MON863' den oluşan, içeren veya üretilen ürünler**) yem amaçlı kullanımı için, 5977 sayılı Biyogüvenlik Kanunu ve ilgili yönetmelik uyarınca Biyogüvenlik Kurulunun 03.03.2011 tarih ve 6 nolu toplantı kararı ile oluşturulan ve bu doğrultuda görevlendirilen Bilimsel Risk Değerlendirme Komitesi tarafından hazırlanmıştır. Raporun hazırlanmasında, Biyogüvenlik Kanunu ve bu kanunun uygulanması ile ilgili yönetmelikler, Rio Bildirgesi, Cartagena Biyogüvenlik Protokolü ve ilgili AB direktifleri gibi ulusal ve uluslararası düzenlemeler dikkate alınmıştır.

Rapor hazırlanırken MON863 mısır çeşidi ile ilgili ithalatçı firma tarafından dosyada sunulan belgeler, risk değerlendirmesi yapan muhtelif kuruluşların (EFSA, WHO, FAO, FDA ve OECD) görüşleri ve bilimsel araştırmaların sonuçları ile farklı ülkelerde üretim ve tüketim durumları göz önünde bulundurulmuştur.

İTHALATÇI KURULUŞLAR:

- Türkiye Yem Sanayicileri Birliği Derneği İktisadi İşletmesi
- Beyaz Et Sanayicileri ve Damızlıkçılar Birliği (BESD-BİR)
- Yumurta Üreticileri Merkez Birliği (YUM-BİR)

ÇEŞİDİ ÜRETEK KURULUŞ:

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

ÇEŞİDİN GELİŞTİRİLME AMACI VE ÜRETİMİ:

Bacillus thuringiensis gram pozitif özellikte, endospor oluşturan bir toprak bakterisidir. 1901 yılında ilk kez ölü ipek böceği larvalarından izole edilen bu bakteri, 1911'de Almanya Thuringen'de un değirmeninde ölü un güvesi (*Ephestia kuehniella*) larvalarından izole edilerek tanımlanmıştır (Berliner, 1911). Bu bakterinin oluşturduğu endosporlar ve bakteri hücresi içindeki kristal protein (cry) böcek tarafından sindirim yoluyla alındığında böcek orta bağırsak epitel hücrelerinde porlar oluşturarak böceğin su kaybından ölümüne neden olmaktadır. Dünyada pek çok *B. thuringiensis* bakterisi izole edilmiş ve kristal toksin proteinler belirlenerek 3 önemli böcek takımına (Lepidoptera, Coleoptera ve Diptera) karşı etkili izolatlara seçilerek biyolojik mücadele amacıyla ticari preparatlar geliştirilmiştir (Krieg, 1986; Weiser, 1986). Bu preparatlar Dünya'da ve ülkemizde önemli tarım ve orman zararlılarına, sineklere karşı (halk sağlığında) yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu amaçla rekombinant DNA teknolojisindeki gelişmelere paralel olarak *B. thuringiensis* türlerinde böceklere toksik etkiye sahip cry proteinlerini kodlayan genler doğrudan veya baz dizileri değiştirilerek kültür bitkilerine aktarılmıştır (Barton ve ark., 1987; Fischhoff ve ark., 1987; Vaeck ve ark., 1987). Geliştirilen bu çeşidin tarımı yapıldığında, taşıdığı gene bağlı olarak

Coleoptera veya Lepidoptera takımında bulunan zararlılara karşı pestisit kullanılmaksızın yetiştirilmekte ve genetiği değiştirilmemiş klasik çeşitlere karşı önemli bir avantaj sağlanmaktadır.

Rapora konu olan MON863 mısır çeşidi, mısır kök kurdu (*Diabrotica* spp.) gibi Coleoptera türlerine karşı koruyucu etkisi olan *Bacillus thuringiensis* bakterisinin değiştirilmiş Cry3Bb1 genini içermektedir. Ayrıca seçici markör gen olarak da neomisin fosfotransferaz II (*npII*) genini içermektedir.

RİSK ANALİZİ VE DEĞERLENDİRMESİ:

MON863 transgenik mısır çeşidi ve ürünlerine ait bilimsel risk analiz ve değerlendirilmesi, bu çeşidin geliştirilmesinde kullanılan gen aktarım yöntemi, aktarılan genin moleküler karakterizasyonu ve ürettiği protein, besin değeri, olası alerjik, toksik 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 olası alerjik ve toksik etki analizleri, genetik modifikasyonun kararlılığı, morfolojik ve agronomik özellikler, hedef dışı organizmalara etkisi vb. ile farklı ülkelerde üretim ve tüketim durumları göz önünde bulundurulmuştur. MON863 mısır çeşidi ile yapılan hayvan besleme çalışmaları da incelenmiş, yem olarak kullanımı sonucu ortaya çıkabilecek riskler değerlendirilmiştir. Ayrıca bu çeşide ait tohumların kaza ile doğaya yayılarak yetişmesi halinde ortaya çıkabilecek tarımsal ve çevresel riskler de dikkate alınmıştır.

1. Moleküler Genetik Yapı Karakterizasyonu

1.1. Aktarılan genleri taşıyan vektörlerin yapısı ve gen aktarım yöntemi

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

MON863 mısır çeşidinde ifade edilen sentetik *cry3Bb1* proteininin, değiştirilmemiş (doğal-Bt) proteininden 7 aminoasitlik bir farkı vardır. Ayrıca, bu proteinin 2. pozisyonunda bir alanin amino asit eklentisi bulunduğu belirtilmiştir (Anon, 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 dokusunda gram başına 10 – 81 mikrogram olarak belirlenmiştir. MON863 bitkilerinin genç yaprak, hasıl, tohumlarında *npII* proteininin ifade edildiği ELISA ile yapılan ölçümlerde doğrulanmıştır (limit sınır (LOD): ≤ 0.076 mikrogram/g) (Anon, 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 embriyolarına partikül bombardımanı yöntemi ile aktarılmıştır.

Bitkiye aktarılan yabancı DNA parçası, 2 ekspresyon kasetinden oluşmaktadır. Bu kasetler seçici markör geni *npII* (*aph(3')*IIa-neomisin fosfotransferaz II) ve böcek öldürücü protein kodlayan sentetik *Bacillus thuringiensis cry3Bb1* gen bölgeleridir. *npII* 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 edilmeye 3' ucu gibi elementleri içermektedir (Anon, 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; 2009). 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 markör olarak kullanımının zararlı bir etkisinin pek ihtimal dahilinde olmadığı belirtilmiştir (EFSA, 2004b, 2009).

1.2. Eklenen DNA parçacığının kararlılığı

İlgili mısır çeşidine aktarılan DNA parçasının genetik kararlılığının, Southern Blot analizi ile 9 nesil boyunca korunduğu gösterilmiştir. Ayrıca, *Cry3Bb1* özelliğinin sonraki nesillere aktarımının incelenmesi kapsamında, Mendel Kalıtımı ile ilgili genetik açılım (segregasyon) verileri 5 nesil boyunca incelenmiştir (EFSA 2005).

2. Kimyasal Bileşim ve Tarımsal Özelliklerin Risk Analizi

2.1. Kimyasal bileşim analizi

Amerika Birleşik Devletleri ve Arjantin'de yapılan arazi çalışmalarından elde edilen MON 863 mısır çeşidinin tanelerinde ve hasılında, transgenik olmayan mısırdaki (MON846) ve ticari mısır melezinde kimyasal analizler gerçekleştirilmiştir. Mısır tanelerinde, protein, yağ, kül, karbonhidrat, nem, asit deterjan lif (ADF) ve nötr deterjan lif (NDF), amino asitler, yağ asitleri, mineraller (kalsiyum, bakır, demir, magnezyum, manganez, fosfor, potasyum, sodyum, çinko), E vitamini, folik asit, riboflavin, tiamin, fitik asit, tripsin inhibitörü, ferulik asit, p-kumarik asit, 2-furaldehit, rafinoz, inositol analizleri yapılmıştır. Mısır hasılında ise protein, yağ, kül, karbonhidrat, nem, ADF ve NDF içeriği analizleri yapılmıştır. Karşılaştırmalarda, farklı bölgelerden elde edilen MON863 mısır ve kontrolleri arasında palmitik asit düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir. Ancak bu farklılık, doğal biyolojik değişim sınırları içinde kalmıştır (EFSA, 2004b, George ve ark., 2004).

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. Nitekim yapılan araştırmalar sonucu önemli tarımsal özellikler (tohum ve çiçek morfolojisi, bitki boyu, vejetasyon süresi vb.) bakımından böceklerle dayanıklılık geni ihtiva eden MON863 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 yasak olduğundan çevresel risk değerlendirmeleri; MON863'ün kullanımı dikkate alınarak, hayvan yemi 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

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.

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 ise 592 bin hektar ekim alanında yaklaşık 4.2 milyon ton tane üretilmiştir (FAO, 2009). Dünya ortalaması olarak, üretilen mısırın yaklaşık % 27'si insan beslenmesinde, % 73'ü hayvan beslenmesinde kullanılmaktadır.

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.

Yem ve gıda amaçlı ithal talebinde bulunulan böceklerle dayanıklılık geni aktarılmış olan MON863 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; MON863 mısır çeşidinin 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 olarak transferi veya ilgili geni taşıyan tohumlardan oluşan bitkilerin tozlaşması sonucu vertikal gen transferi ile mümkün olmaktadır.

3.2.1. Bitkiden bitkiye gen transferi

Mısır yabancı döllen (allogame) bir bitkidir. Çiçeklenme periyodu boyunca bir mısır bitkisi 5 milyondan fazla polen üretebilmektedir (Kurt, 2010). Buna bağlı olarak bir bitkiden diğer bir bitkiye polen geçişi, dolayısıyla gen akışı doğal bir süreçtir.

Türkiye de GD mısırdan gen kaçışı olasılığını sınırlandıran faktörler:

- GD ürün tarımının kanunlarla yasaklanmış olması,
- Ülkemizin yabancı mısır türlerinin gen merkezi olmaması,
- Mısır tarımının sınırlı alanlarda yapılması,
- Mısır tohumlarının dormansi göstermemesi,
- Uygun koşullar altında çimlenip gelişebilmeleri,
- Tohumların yenmesi ve çürümesidir.

Mısır kültüre alınmadığı sürece çevrede yaşamını sürdürmesi oldukça zordur. Yazlık ve sıcak iklim bitkisi olan mısırın Türkiye koşullarında kışın yaşama şansı 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 bitkisi ne rastlanmamaktadır. Ayrıca mısırın Türkiye'de tozlaşma potansiyeline sahip yabancı

türleri bulunmamaktadır. Ülkemizde yerli mısır çeşitleri çok sınırlı alanlarda yetiştirilmektedir. GDO mısır kültüre alınmadığı için de yerli çeşitlere polen akışı riski çok az görülmektedir.

MON863 GD mısır çeşidi *Bacillus thuringiensis* bakterisine ait *cry3Bb1* geninin aktarılması ile mısırdaki zararlı mısır kök kurtlarına (*Diabrotica* spp.) karşı koruma sağlamak amacıyla geliştirilmiştir. Böcek dayanıklılık özelliği mısır yetiştiriciliğinde yoğun bir kök kurdu popülasyonunun olduğu durumlarda GD mısıra seçici bir avantaj sağlamaktadır. Ancak GD mısır böcek dayanıklılık geni dışında hastalıklara dayanıklılık, diğer kültür bitkileri ile rekabet, soğuk koşullarda yaşamını sürdürme, dormansi fazına sahip olmama gibi klasik mısır çeşitlerine göre farklı bir özellik içermemektedir. Bu nedenle de mısır üretim alanları dışında kendiliğinden yetişen bitkilerin yada bunlardan meydana gelenlerin ertesi sezona kadar yaşamını sürdürme ve doğada popülasyonlar oluşturabilme şansı bulunmamaktadır.

Yapılan çalışmalar MON863 mısır çeşidinin etkili olduğu böcek dayanıklılığı dışında hayatta kalabilme, çoğalma ve yayılma gibi ilave karakteristikleri taşımadığını göstermektedir. MON863 mısır çeşidinin kullanılmasının bir sonucu olarak bu mısır çeşidi ile beslenen hayvanların sindirim sisteminden dışarıya atılan dışkı ve gübreler sayesinde çevrenin dolaylı olarak bu gene maruz kalabilme olasılığı vardır. EFSA 2004b raporunda da değinildiği gibi MON863 ile ilgili olarak ürünlerdeki Cry proteinlerinin hayvanların sindirim sisteminden çevreye yada horizontal gen akışı şeklinde bakteriye geçmesi ihtimali vardır. Ancak bu konuda yapılan çalışmalara ait bilimsel veriler değerlendirildiğinde cry proteinlerinin sindirim kanalında tamamen parçalanacağı ancak çok az bir miktarın parçalanmadan dışkıya geçebileceğini göstermiştir (Lutz ve ark., 2005; Wiedemann ve ark., 2006). Ayrıca dışkı olarak dışarıya parçalanmadan atılacak olan protein de gübredeki mikrobiyal faaliyet sonrası parçalanacaktır. Cry proteinlerinin toprakta humik asit, kil gibi toprak partiküllerine bağlanarak parçalanmadan korunabileceği düşünülse bile bu konuda yapılan çalışmalar, GD bitkilerde bulunan Cry proteinlerinin toprakta kalıcı olmadığını ve herhangi bir birikimin de söz konusu olamayacağını göstermektedir (Head ve ark., 2002; Herman ve ark., 2002; Dubelman ve ark., 2005; Ahmad ve ark., 2005; Baumgarte ve Tebbe, 2005; Hopkins ve Gregorich, 2005; Icoz ve Stotzky 2008; Krogh ve Griffiths, 2007; Lawhorn ve ark., 2009).

Sonuç olarak, böceklere dayanıklılık geni aktarılmış olan MON863 mısır çeşidi, hayatta kalabilme, çoğalma ve yayılma açısından bir değişiklik içermediği, söz konusu mısırdan gen kaçışının son derece düşük bir ihtimal dahilinde olduğu bu nedenlerden dolayı da beklenmedik bir çevresel etki yaratmayacağı kanısına varılmıştır.

3.2.2. Bitkiden bakteriye gen transferi

GD bitkilerdeki transgenlerin farklı yollarla çevreye bulaşması durumu göz önüne alındığında çevrede yaratacağı etkinin hiçbir zaman genetiği değiştirilmemiş mısırdan farklı olmayacağı EFSA (2004b) tarafından rapor edilmiştir. Ayrıca EFSA (2009) DNA parçalarının doğal koşullarda bitkiler ve mikroorganizmalar gibi farklı organizmalar arasında yatay gen transferinin olma ihtimalinin yok denecek kadar az olduğunu vurgulamıştır. Sindirim sisteminde parçalanmadan kalan çok az miktarda DNA olduğu bilinmektedir. Bu DNA ile karşılaşabileceği bakteriler arasında transformasyonu engelleyen genetik bir uyumsuzluk söz konusudur. Bunun yanında, yatay gen transferini engelleyen diğer önemli bir faktör de DNA rekombinasyonu için baz dizilişlerinin uygun olmamasıdır. Diğer taraftan, genetiği değiştirilmiş bitkilerden sindirim sistemi bakterilerine yatay gen aktarımı ile gen aktarımının olası olduğu, fakat bu durumun sık görülen bir olay olmadığı belirtilmiştir. Bu olasılığın risk değerlendirmesi kapsamında değerlendirilmesinin önemli olduğu vurgulanmıştır (Thomson, 2001).

MON863 mısır çeşidi *cry3Bb1* geninin değiştirilmiş şeklini ve neomisin fosfotransferaz II proteinini kodlayan tam bir *nptII* genini içermektedir. *nptII* geni MON863'ün oluşturulması sırasında seçici markör olarak kullanılmıştır. Ancak GD bitkilerden *nptII* antibiyotik dayanıklılık genlerinin çevrede, insan ve hayvan sağlığı üzerinde olumsuz bir etki yaratması söz konusu değildir (EFSA, 2009). *nptII* geni geçmişte emniyetle kullanımı kanıtlanmış ve iyi bir seleksiyon markörü olarak bilinmekte (Nap et al., 1992; Redenbaugh et al., 1994) olmasına karşın, son yıllarda yapılan plazmit markör kurtarma çalışmaları *in vitro*'da *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).

Rekombinant DNA parçasındaki *cry3Bb1* geninin, çevrede mevcut benzer bakterilerdeki genlerle rekombinasyon için uyumluluk gösterme ihtimali vardır. Çevredeki bakteri genomu ile rekombinasyon sağlanması durumunda MON863 deki eukaryotik bitki promotörünün varlığı nedeniyle transfer olan *cry* geninin çevredeki bakterilerde ifade edilmesi olasılığının çok düşük olduğu EFSA (2010) tarafından rapor edilmiştir. Diğer taraftan bu transferin ifadesi mevcut bakterilere seçici bir avantaj da sağlamayacaktır. Ayrıca bitkideki *cry3Bb1* geni virüs promotörü tarafından ifade edilmektedir. Bitki virüs promotörleri, bakteri gibi organizmalarda aktivite gösterebilir. Ancak *cry3Bb1* geni ve onu düzenleyen elementlerin bakteri tarafından alınması bu mikroorganizmalar için farklı bir özellik değildir. Çünkü söz konusu *cry* genleri çevrede doğal *B. thuringiensis* popülasyonlarında da mevcuttur.

3.3. Hedef olmayan organizmalar ile etkileşim potansiyeli

MON863 mısır çeşidindeki Cry3Bb1 proteininin 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 mümkündür.

Cry proteinlerinin çoğu onu tüketen hayvanların sindirim sisteminde tamamen parçalanacağından çok az miktarda dışkıya geçmektedir (Einspanier ve ark., 2004; Lutz ve ark., 2005, Wiedemann ve ark., 2006; Guertler ve ark., 2008; Paul ve ark., 2010). Ancak dışkıdaki bu proteinler gübrede mikrobiyal faaliyet ve proteolitik aktivite nedeniyle tekrar parçalanmaktadır. Bu nedenle toprak ve su çevreleri çok düşük miktarda ve lokal olarak Cry3Bb1 proteinlerine maruz kalabilir. Ayrıca Cry proteinlerinin topraktaki humus benzeri ve kil minerallerine bir miktar bağlanması mümkün olsa bile toprakta kalıcılığı ve birikimi söz konusu değildir (Icoz ve Stotzky, 2008).

Yapılan çalışmalar MON863 mısırdaki Cry3Bb1'in Cry1Ab e göre aynı koşullarda çok daha hızlı bir şekilde parçalandığını göstermiştir (Baumgarte ve Tebbe, 2005; Miethling-Graff ve ark., 2010).

Sonuç olarak mevcut literatür ışığında, MON863 mısır çeşidinin içerdiği proteinler nedeni ile potansiyel olarak duyarlı olan hedef dışı organizmaları etkileme olasılığının düşük olduğu görülmektedir.

4. Yem Güvenliğinin Değerlendirilmesi

MON863 mısırla beslenen et, süt ve yumurta üretiminde kullanılan hayvanlarla yapılan çalışmalar dikkate alınarak risk değerlendirmesi yapılmıştır.

4.1. Toksikolojik değerlendirmeler

EFSA'ya göre, başvuru sahibi tarafından yaptırılan biyoinformatik analizlerde MON863 mısırında 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 immunglobülin E (IgE)'nin Cry3Bb1'e bağlanma durumu araştırılmıştır. Bunun için araştırmacılar önce mısıra alerjisi olan 13 ABD'li 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'e 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.

MON863 mısırın 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, vücut ağırlığı, yem tüketimi, klinik patoloji parametreleri (hematoloji, kan kimya ve idrar analizleri), organ ağırlıkları, makro ve mikroskopik doku muayeneleri incelenmiştir. Sonunda gruplar arasında herhangi bir farklılık bulunmamış ve MON863 ile beslenen sıçanların, en az diğer geleneksel mısırlarla beslenen hayvanlar kadar güvende olabileceği sonucuna varılmıştır.

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 yeniden değerlendirme sonucunda MON863 tüketen sıçanlarda doza bağlı bir biçimde 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 mısırın 90 günlük toksisite çalışmasında hepatorenal etkiler gösterdiğini öne sürdüğü değerleri tekrar analiz ederek değerlendirmişlerdir. Oluşturulan panel sonucunda 90 günlük sıçan çalışmasında MON863 mısırın olumsuz etkileri olduğunu gösteren hiçbir kanıt sağlanamamıştır. Her iki durumda da, istatistiksel bulgular Monsanto ve Seralini ve arkadaşlarına bildirilmiştir. Vendomois ve ark. (2009), MON863'ü de içeren 90 günlük fare besleme çalışmalarında daha önce yapılan Seralini ve ark. (2007)'nin yaptığı çalışma verilerinin istatistiksel analizlerini tekrar etmişler ve daha önceki sonuçları doğrulamışlardır. Ancak EFSA Paneli almış olduğu kararı değiştirecek yeni bir bulgunun ortaya konmadığı sonucuna varmıştır.

Vendomois ve ark. (2009) tarafından yapılan bir çalışmada gıda ve yem olarak kullanılan 3 ana ticari genetiği değiştirilmiş mısır (NK 603, MON810 ve MON863), sıçanlara yedirilerek alınan kan ve organlarında karşılaştırmalı analizler yapılmıştır. 2 farklı laboratuarda 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 ayrıca başka normal (genetiği değiştirilmemiş) referans 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 dışıerde 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 yedirilen sıçanlarda plazma kreatinin düzeyi ile kronik interstitial nefropatiyle ilişkili iyon geri alınmasındaki artış nedeniyle böbrek yetmezliği görüldüğü bildirilmiştir. Bu durum Monsanto firmasına bağlı olarak çalışan Hammond ve ark (2006)'nın bildirdiği raporlarda 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 reddedilmiştir. Halbuki Vendemois ve ark. (2009)'nın çalışmasında bu durumun arkasına sığmılamaması gerektiği belirtilmiştir. Zira deneyin sonunda sıçanlar hala 5 ay gibi genç sayılacak bir yaşta olduklarından bu argümanların yanlış olduğu belirtilmiştir. 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.

4.2. MON863 mısırın beslenme ile ilgili değerlendirilmesi

Hyun ve ark. (2005) tarafından 2 ayrı yerde yapılan 2 çalışmada, MON863 mısır, onun genetik yönden benzeri genetiği değiştirilmemiş mısır (RX670) veya 2 geleneksel genetiği değiştirilmemiş mısır (DK647 ve RX740) içeren yemlerle beslenen domuzların büyüme performansı ile büyümesini bitirmiş domuzların karkas özellikleri araştırılmış ve MON863 mısır tüketen büyümekte olan veya büyümesini tamamlamış domuzların büyüme performansı ve karkas özelliklerinin, genetiği değiştirilmemiş mısır tüketen domuzlarınkiyle eşdeğer olduğu sonucuna varılmıştır.

Yapılan başka bir çalışmada MON863 mısırdan elde edilen tanelerle veya otlaktaki mısır bitkisi artıkları ile beslemenin danaların performansını etkilemediği ve benzer olduğu ifade edilmiştir (Vander Pol ve ark., 2005). Scheideler ve ark. (2008) tarafından Cry3Bb1 proteininin in vivo sindirilebilirliğinin araştırıldığı bir çalışmada, MON863 mısır içeren yemle beslenen yumurta tavuklarının yem tüketimi, yumurta verimi ve vücut ağırlığı üzerine olumsuz bir etki bulunmamış, ayrıca Cry3Bb1 proteininin yemdeki diğer proteinlere benzer şekilde sindirildiği ve karaciğer ile kas dokusunda belirlenemediği ortaya konulmuştur.

Fischer ve Miller (2004), tarafından MON 863 mısır ve kontrol amacıyla transgenik olmayan (RX740CRW) mısır hibritlerini içeren rasyonlarla beslenen genç domuzlarda, besin maddeleri bileşimi, sindirilebilir ve metabolize edilebilir enerji düzeyleri ile azot sindirilebilirliğini karşılaştırmak için bir araştırma yapmışlardır. Bu denemenin sonucu, MON863 mısır ve transgenik olmayan hibrit mısır içeren rasyonların enerji ve azot değerlendirilebilirliğinin benzer olduğunu göstermektedir. Böylece, transgenik mısırla, azot ya da enerji sindirilebilirliği olumsuz etkilenmeksizin genç domuz beslenebileceği ifade edilmektedir.

Grant ve ark. (2003), süt ineklerinde glifosat toleranslı (NK603mısır) ve mısır kök kurdu korumalı (MON863) melez mısır, genetiği değiştirilmemiş melez ve iki referans hibritle

karşılaştırılarak yem tüketimi ve süt verimi üzerine etkisini değerlendirmek için iki çalışma yapılmıştır. Özetle, bu iki çalışma NK603mısır ve MON863 mısır ile genetiği değiştirilmemiş melezleri ve geleneksel mısır melezleri karşılaştırıldığında süt inekleri için besin değerini etkilemediği belirlenmiştir.

Taylor ve ark. (2003), Etlük piliçleri 42 gün boyunca MON 863 mısır ve bunun genetiği değiştirilmemiş kontrolü ile 6 ticari referans mısır hibritleriyle beslemişlerdir. Birinci denemede yemden yararlanma oranı ve besi sonu ağırlıklarda gruplar arasında bir fark bulunmadığı ortaya konulmuştur ($p>0.05$). Karkas parametrelerinden karkas ağırlığı, iç yağı, but bölümleri ile kanat ağırlıkları bakımından rasyonlar arasında hiçbir fark bulunamamıştır. Canlı ağırlığın yüzdesi olarak hesaplandığında ise, MON863 ve ticari mısır arasındaki göğüs kası, karkas ve but ağırlıkları ile kanat ağırlıkları için farklılıklar elde edilmiştir ($P<0.05$). Elde edilen göğüs eti ve but etlerinde protein, yağ ve nem oranlarında her hangi bir farklılık gözlenmemiştir. İkinci denemede ise MON810 x MON863 mısır bunun genetiği değiştirilmemiş kontrolü ile 6 ticari referans mısır hibritleriyle beslemişlerdir Değerlendirilen tüm performans ve karkas parametreleri ile etin kompozisyonunda önemli bir farklılık bulunmamıştır. Sonuç olarak MON863 mısır, MON810 x MON863 mısır bunun genetiği değiştirilmemiş kontrolü ile ticari referans mısır hibritlerinin her biri ayrı ayrı karşılaştırıldığında yem değerlerinin aynı olduğu anlaşılmıştır.

GENEL SONUÇ ve ÖNERİLER

Genetiği değiştirilmiş bir bitkinin yem güvenliği açısından bilimsel risk analiz ve değerlendirmesinde, 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 alınmaktadır.

Bitkilere gen aktarımında yabancı genin bitki genomuna girişi rastgele olmaktadır ve aktif halde bulunan genlerin değişmesi, sessizleşmesi veya sessiz halde bulunan genlerin aktif hale gelmesi gibi değişimler meydana gelebilmektedir. Bu konuda yapılan çalışmada, genetiği değiştirilmiş Arabidopsis bitkilerinde 102 adet yeni protein belirlenmiştir. Beklenmeyen etkiler olarak tanımlanan bu değişimler, yeni metabolitlerin oluşmasına veya mevcut metabolitlerin değişmesine neden olabilmektedir (Ren ve ark., 2009).

MON863 mısır çeşidinin elde edilmesinde kullanılan gen aktarım yöntemi ve aktarılan genlerin moleküler karakterizasyonu ile ilgili literatür incelendiğinde bilinen kabul edilebilir herhangi bir olumsuz sonuca rastlanılmamıştır. Aynı şekilde üretilen proteinlerinin, yapılan biyoinformatik analizler sonucunda bilinen bir alerjen veya toksik proteinle homolojisine rastlanılmamıştır.

MON 863 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.

EFSA 2004a ve 2009 raporlarında çeşitli antibiyotik direnç genleri içeren GD bitkilerinin yetiştirildiği tarlalarda, bu bitkilerde bulunan antibiyotik direnç markör genlerini taşıyan bakterilerin var olduğu saptanmış ancak ilgili markör genlerin GD bitkilerden bakteriye geçtiği konusunda kesin bir kanıt bulunmadığı ifade edilmiştir. Bununla birlikte, aynı raporlarda bitkiden bakteriye yatay gen geçişi ile ilgili hiçbir verinin bugüne kadar kesin olarak ortaya konmaması nedeniyle bu genin GD bitkilerde bulunmasının önemli bir sorun oluşturmayacağı değerlendirilmiştir.

Ülkemizde 5977 sayılı kanun kapsamında genetiği değiştirilmiş çeşitlerin yetiştirilmesi yasak olmakla birlikte, ithalatı istenen MON863 mısır çeşidi tanelerinin amaç dışı çevreye dağılması veya olası kaçak ekimler nedeniyle gen kaçıışı riski göz önünde bulundurulmalıdır.

Sonuç olarak; MON863 mısır çeşidi ile ilgili kaynaklar dikkate alındığında; hepato-renal toksisite başta olmak üzere, dalak, immün sistem, genito-üriner sistem dahil çoklu organ ve sistem zedelenmesini rapor eden yayınların varlığı, nptII antibiyotik direnç geni taşıması ve bu genin bitkiden bakterilere yatay gen geçişinin mümkün olabileceğine ilişkin yayınların varlığı, dikkate alınarak, MON863 mısır çeşidinin yem olarak kullanılmasının risk taşıyabileceğine oybirliği ile karar verilmiştir.

LİTERATÜR

- 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.
- 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**(2011).http://www.cera-gmc.org/?action=gm_crop_database&mode=ShowProd&data=mon863 (Erişim: 24.09.2011).
- Barton, K. A., Whiteley, H. R., Yong, N.** (1987). *B. thuringiensis* delta-endotoxin expressed in transgenic *Nicotiana tabacum* provides resistance to lepidopteran insects. *Plant Physiol.*, 85: 1103-1109.
- 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.
- Berliner, E.** (1911). Ueber die Schlafsucht der Nahlmottenraupe (*Ephestia kuhniella* Zell) und ihren Erreger *Bacillus thuringiensis* n.sp. *Zeitschrift für angewandte Entomol.*, 21: 29-56.
- Doull, J., Gaylor, D., Greim, H.A., Lovell, D.P., Lynch, 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 Chem. Toxicol.*, 45, 2073–2085.
- Dubelman, S., Ayden, B., Bader, B., Brown, C., Jiang, C., Vlachos, D.** (2005). Cry1Ab protein does not persist in soil after 3 years of sustained Bt corn use. *Environ. Entomol.*, 34: 915-921.
- EFSA** (2004a). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on the use of antibiotic resistance genes as marker genes in genetically modified plants. *The EFSA Journal* 48: 1-18.
- EFSA** (2004b). 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** (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 MON863 x NK603, for food and feed uses, and 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** (2009). 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** (2010). Scientific Opinion on an application (EFSA-GMO-RX-MON863) for renewal of the authorisation for continued marketing of existing feed materials, feed additives and food additives produced from maize MON863, under Regulation (EC) No 1829/2003 from Monsanto. EFSA Journal 2010; 8(03): 1562, 1-15.
- Einspanier, R., Lutz, B., Rief, S., Berezina, O., Zverlov, V., Schwarz, W., Mayer, J.** (2004). Tracing residual recombinant feed molecules during digestion and rumen bacterial diversity in cattle fed transgenic maize. Eur. Food Res. Technol., 218: 269-273.
- FAO** (2009). FAO Statistical Yearbook. <http://faostat.fao.org/site/567>.
- Fischer, R.L., Miller, P.S.** (2004). Energy and Nitrogen Utilization of Corn Rootworm Protected Corn (Event MON 863) and Similar Non-Transgenic Corn in Young Pigs. Animal Science Department, Nebraska Swine Reports. Page:18-20. <http://digitalcommons.unl.edu/coopextswine/12>
- Fischhoff, D.A., Bowdish, K.S., Perlak, J., Marrone, P.G., McCormick, S.M., Niedermeyer, J.G., Dean, D.A., Kusana-Kreuzmer, K., Mayer, E.J., Rochester, D.E., Rogers, S.G., Fraley, R.T.** (1987). Insect tolerant transgenic tomato plants. Biotechnol., 5: 807-813.
- 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.
- Grant, R.J., Fanning, K.C., Kleinschmit, D., Stanisiewski, E.P., Hartnell, G.F.** (2003). Influence of glyphosate-tolerant (event nk603) and corn rootworm protected (event MON863) corn silage and grain on feed consumption and milk production in Holstein cattle. J. Dairy Sci., 86(5):1707-1715.
- Guertler, P., Lutz, B., Kuehn, R., Meyer, H.H.D., Einspanier, R., Killermann, B., Albrecht, C.** (2008). Fate of recombinant DNA and Cry1Ab protein after ingestion and dispersal of genetically modified maize in comparison to rapeseed by fallow deer (*Dama dama*). Eur. J. Wildlife Res., 54: 36-43.
- 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., 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., 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 (MON863), a nontransgenic genetically similar corn, or conventional corn hybrids. J. Anim. Sci., 83: 1581-1590.
- Icoz, I., Stotzky, G.** (2008). Fate and effects of insect-resistant Bt crops in soil ecosystems. Soil Biol. Biochem., 40: 559-586.
- Kirtok, Y.** (1998). Mısır Üretimi ve Kullanımı. Ç.Ü. Zir. Fak. Tarla Bitkileri Bölümü. Kocaelik 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 Sci. Biotechnol., 18: 1273-1278.

- Krieg, A.** (1986). *Bacillus thuringiensis*, ein mikrobielles Insektizid, Grundlagen und Anwendung. Acta Phytomedica 10, Beiheft zur Phytopathologischen Zeitung, Paul Parey, Berlin und Hamburg.
- Krogh, H., Griffiths, B.** (2007). ECOGEN – Soil ecological and economic evaluation of genetically modified crops. *Pedobiol.*, 51: 171-173.
- Kurt, O.** (2010). Bitki Islahı. OMU Ziraat Fakültesi Yayın No: 43 (3. Basım).
- Lawhorn, C.N., Neher, D.A., Dively, G.P.** (2009). Impact of coleopteran targeting toxin (Cry3Bb1) of Bt corn on microbially mediated decomposition. *Applied Soil Ecology*, pre-print published online, DOI:10.1016/j.apsoil.2008.12.003.
- Lutz, B., Wiedemann, S., Einspanier, R., Mayer, J., Albrecht, C.** (2005). Degradation of Cry1Ab protein from genetically modified maize in the bovine gastrointestinal tract. *J. Agric. Food Chem.*, 53: 1453-1456.
- Miethling-Graff, R., Dockhorn, S., Tebbe, C.C.** (2010). Release of the recombinant Cry3Bb1 protein of Bt maize MON88017 into field soil and detection of effects on the diversity of rhizosphere bacteria. *Eur J. Soil Biol.*, 46: 41-48.
- Nakajima, O., Koyano, S., Akiyama, H., Sawada, J., Teshima, R.** (2010). Confirmation of a predicted lack of IgE binding to Cry3Bb1 from genetically modified (GM) crops. *Regul. Toxicol. Pharm.*, 56: 306–311.
- OECD (2003).** Consensus document on the biology of *Zea mays* subsp. *Mays* (Maize). Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology.
- Paul, V., Guertler, P., Wiedemann, S., Meyer, H.H.D.** (2010). Degradation of Cry1Ab protein from genetically modified maize (MON810) in relation to total dietary feed proteins in dairy cow digestion. *Transgenic Res.*, 19:683-689.
- Ren, Y., Lv, J., Wang, H., Li, L., Peng, Y., Qu, L.J.** (2009). A comparative proteomics approach to detect unintended effects in transgenic *Arabidopsis*. *J Genet Genomics*, 36: 629–639.
- Scheideler, S.E., Hileman, R.E., Weber, T., Robeson, L., Hartnell, G.F.** (2008). The in vivo digestive fate of the Cry3Bb1 protein in laying hens fed diets containing MON863 corn. *Poultry Sci.*, 87: 1089-1097.
- 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.
- Taylor, M. L., Hyun, Y., Hartnell, G.F., Riordan, S.G., Nemeth, M.A., Karunanandaa, K., George, B., Astwood, J.D.** (2003). Comparison of Broiler Performance When Fed Diets Containing Grain from YieldGard1 Rootworm (MON863), YieldGard Plus (MON810 XMON863), Nontransgenic Control, or Commercial Reference Corn Hybrids. *Poultry Sci.*, 82:1948–1956.
- Thomson, J.A.** (2001). Horizontal transfer of DNA from GM crops to bacteria and to mammalian cells. *J. Food Sci.*, 66: 188–193.
- Vaeck, M., Reynearts, A., Höfte, H., Jansens, S., Beuckeleer, M. D., Dean, C., Zabeau, M., Montagu, M. V., Leemans, J.** (1987). Transgenic plants protected from insect attack. *Nature*, 328: 33-37.
- Vander Pol, K.J., Erickson, G.E., Robbins, N.D., Berger, L.L., Wilson, C.B., Klopfenstein, T.J., Stanisiewski, E.P., Hartnell, G.F.** (2005). Effects of grazing residues or feeding corn from a corn rootworm protected hybrid (MON863) compared with reference hybrids on animal performance and carcass characteristics. *J. Anim. Sci.*, 83: 2826-2834.
- Weiser, C.** (1986). Impact of *Bacillus thuringiensis* on applied Entomology, In: Krieg, A. and A. M. Huger, (Eds.). In *Mitt. Biol. Bundesanstalt Land Forstwirtschaft. Berl. Dahlem*. Paul Parey, Berlin, Germany, pp:37-49.
- Wiedemann, S., Lutz, B., Kurtz, H., SchwarzF. J., Albrecht, C.** (2006). In situ studies on the time-dependent degradation of recombinant corn DNA and protein in the bovine rumen. *J. Anim.Sci.*, 84: 135-144.