

RAPOR :

YEM AMACIYLA İTHALİ İSTENEN GENETİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ (MON 88017 x MON 810) MISIR ÇEŞİDİ ve ÜRÜNLERİ İÇİN BİLİMSEL RİSK DEĞERLENDİRME RAPORU

1. RAPORUN HAZIRLANIŞ GEREKÇESİ VE DAYANAKLARI

Bu rapor, Coleoptera ve Lepidoptera takımlarına bağlı bazı zararlı türlere dayanıklılığın (Cry3Bb1 ve Cry1Ab) ve glifosat'a toleransın (CP4 EPSPS) sağlanması amacı ile genetiği değiştirilmiş mısır çeşidinin yem amaçlı ithalatı için, 5977 sayılı Biyogüvenlik Kanunu ve 13.08.2010 tarihli 27671 sayılı "Genetik Yapısı Değiştirilmiş Organizmalar ve Ürünlerine Dair Yönetmelik" uyarınca Biyogüvenlik Kurulunun 01.11.2010 tarih ve 3 nolu kararı ile oluşturulan ve bu karar doğrultusunda görevlendirilen Bilimsel Risk Değerlendirme Komitesi tarafından hazırlanmıştır. Rapor hazırlanırken; çeşitle ilgili ithalatçı firmaca dosyada sunulan belgeler, risk değerlendirilmesi yapan muhtelif kuruluşların (EFSA, OECD, WHO, FAO ve Japonya Çevre Bakanlığı) görüşleri ve bilimsel araştırmaların sonuçları göz önünde bulundurulmuştur. Risk değerlendirmesi; gen aktarım yöntemi, aktarılan genin moleküler yapısı, çeşidin kimyasal bileşimi ve tarımsal özellikleri, toksisite, alerjenite, genetik yapıdan kaynaklanan beklenmeyen etkiler ve çevresel etkileri gibi konular dikkate alınarak yapılmıştır.

2. İTHALATÇI KURULUŞ

- Türkiye Yem Sanayicileri Birliği Derneği İktisadi İşletmesi
- Beyaz Et Sanayicileri ve Damızlıkçılar Birliği Derneği
- Yumurta Üreticileri Merkez Birliği

3. İTHAL EDİLMEK İSTENEN ÇEŞİT ve ÜRÜNLERİ

MON 88017 x MON 810; glifosat'a (CP4 EPSPS) tolerans gösteren, *Bacillus thuringiensis* ssp. *kumamotoensis*'e ait Cry3Bb1 geni ile *Bacillus thuringiensis kurstaki*'ye ait *cry1Ab* geninin ürettiği toksinler nedeniyle, Lepidoptera ve Coleoptera takımlarında yer alan hedef zararlı türlere dayanıklı olarak tanımlanan melez mısır.

4. ÇEŞİDİ GELİŞTİREN KURULUŞ

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

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

5. ÇEŞİDİN GELİŞTİRİLME AMACI

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

6. RİSK ANALİZİ ve DEĞERLENDİRİLMESİ

MON 88017 x MON 810 melez mısır çeşidine ve ürünlerine ait risk analiz ve değerlendirmesi; bu çeşidin geliştirilmesinde kullanılan gen aktarım yöntemi, aktarılan genin moleküler karakterizasyonu ve ürettiği protein, besin değeri, alerjik ve toksik etkileri ile çevreye olası gen geçişlerinden kaynaklanabilecek riskler dikkate alınarak yapılmıştır.

Bu çeşitle ilgili bilimsel risk değerlendirilmesi yapılırken, çeşitle ilgili ithalatçı firmaca dosyada sunulan belgeler, risk değerlendirilmesi yapan kuruluşların (EFSA, WHO, FAO, OECD) raporları ve bilimsel araştırmaların sonuçları (alerjik ve toksijenik etki analizleri, genetik modifikasyonun stabilitesi, morfolojik ve agronomik özellikler, hedef dışı organizmalara etkisi vb.) göz önünde bulundurulmuştur. Yapılan hayvan besleme çalışmaları da incelenerek, **yem olarak** kullanımı sonucu ortaya çıkabilecek riskler değerlendirilmiştir. Ayrıca, bu çeşide ait tohumların istem dışı doğaya yayılarak yetişmesi halinde ortaya çıkabilecek tarımsal ve çevresel riskler de dikkate alınmıştır.

6.1. Moleküler Genetik Yapı Tanımlanması ve Değerlendirilmesi

6.1.1. Aktarılan genleri taşıyan vektörlerin yapısı ve gen aktarım yöntemi

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

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

Aktarılan genler (MON 88017):	
<i>cry3Bb1</i>	Kaynak: <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kumamotoensis</i>
CP4 <i>epsps</i>	Kaynak: <i>Agrobacterium tumefaciens</i>
Aktarılan genler (MON 810):	
<i>cry1Ab</i>	Kaynak: <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i>

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

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

6.1.2. Aktarılan genlerin moleküler yapısı, anlatımı ve stabilitesi

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

MON 88017 çeşidinde 2 gen kaseti bulunmaktadır. Bunlardan CP4 *epsps* gen kasetinde, çeltikten elde edilen ve aktarılan genin anlatımını sağlayan aktin 1 promotörü (*Act 1*) ile *act 1* aktin intronu; *Arabidopsis*'den elde edilen ve EPSPS proteinini kloroplasta transfer ederek amino asitlerin sentezini sağlayan CTP2 dizini; *A. tumefaciens*'den elde edilen değiştirilmiş CP4 *epsps* geni (serin yerine lösin amino asidini içermektedir) ve *A. tumefaciens*'in T-DNA'sından elde edilerek mRNA'nın kopyalanmasını sonlandıran *nos 3'* geni bulunmaktadır.

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

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

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

MON 88017 x MON 810 melez mısır çeşidinde, yeni aktarılan *cry3Bb1*, *cry1Ab* ve CP4 *epsps* genlerinin, silaj ve tanelerdeki anlatım düzeyleri ELISA testi ile analiz edilmiştir. Melez ve anaçları Amerika'da mısır tarımının yoğun olarak yapıldığı bölgede yetiştirilerek doku örnekleri alınmıştır. Çeşidin, hayvan yemi olarak kullanılacağı düşünülerek özellikle tanelerdeki protein anlatım düzeyleri belirlenmiştir. Melezdeki protein düzeyleri, anaçları ile karşılaştırıldığında, güvenlik açısından, sorun olmadığı görülmüştür. Laboratuvar analizleri ile anaçlarda bulunan hedef genlerin melezde toplandığı belirlenmiştir (EFSA, 2009).

Yabancı bir DNA'nın, aktarıldığı organizmaya kendi DNA'sı gibi entegre olup stabil bir biçimde etkinliğini sürdürebilmesi tartışmalı bir konudur. Transgenlerin stabil olmadıklarına ilişkin doğrudan ve dolaylı kanıtlar ileri sürülmekte ve bunlardan elde edilen çeşitlerin gerçek ıslah çeşitleri olmadıkları vurgulanmaktadır (Pawloski ve Somers, 1996). Transgenik bitkinin dölllerinde, rekombinant DNA'nın stabilitesi ile ilgili olarak; moleküler yapıya, aktarılan genin genomdaki yerine ve aktarımdan sonra genlerin yeniden düzenlenmesine ilişkin bilgilerin yetersiz olması, bu konuda belirsizlik yaratmaktadır. Aktarılan genler, transgenik bitkinin gelecek kuşaklarında protein sentezini durdurabilmekte ya da tümüyle kaybolabilmektedir (Srivastava ve Anderson, 1999). *Arabidopsis*'e vektör aracılığı ile aktarılan ve herbisit toleransı sağlayan genlerin ileri kuşaklarda kaybolma olasılığı, aynı genin mutagenез ile elde edilenine oranla, 30 kat daha fazla olduğu belirlenmiştir

(Bergelson ve ark., 1998). Transgenik bitkilerde stabilite; bitkinin fizyolojik durumuna, ışık kalitesine, su ve besin maddelerinin durumuna, sıcaklık, hastalık, zararlılar gibi stres faktörlerine bağlı olarak değişim gösterebilmektedir (Craig ve ark.,2008).

6.2. Kimyasal Bileşimlerin ve Tarımsal Özelliklerin Değerlendirilmesi

6.2.1. Kimyasal bileşim

MON 88017 x MON 810 melez çeşidinin silaj ve tanelerine ilişkin kimyasal analizler, 2002 yılında Amerika'da deneme tarlalarında yetiştirilen materyal üzerinde yapılmıştır. Sonuçlar, klasik olarak geliştirilmiş ve aktarılan genler dışında genetik temeli melez mısır ile benzer olan kontrol çeşitleri ile karşılaştırılmıştır (OECD, 2002; EFSA, 2009).

Silaj örneklerinde yağ, protein, kül, nem, toplam karbonhidrat, asit deterjan lifi, nötr deterjan lifi, fosfor ve kalsiyum; tane örneklerinde ise, asit deterjan lifi, nötr deterjan lifi, toplam diyet lifi, amino asit, yağ asidi, mineraller (kalsiyum, demir, bakır, magnezyum, manganez, fosfor, potasyum, sodyum ve çinko) gibi maddeler analiz edilmiştir.

Melez mısır ve kontrol çeşitlerinde, tüm lokasyonlardan elde edilen veriler analiz edilip sonuçları karşılaştırıldığında, silaj ve taneler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır. Kontrol çeşidi ile karşılaştırıldığında MON 88017 x MON 810 melez mısır çeşidinin tanelerinde, alanin, linoleik asit, araşidik asit ve ferulik asitte önemli artışlar; eikosanoik asit, bakır, potasyum ve B2 vitamininde ise önemli azalmalar belirlenmiştir (EFSA, 2009). Bitki genomlarına yeni bir genetik materyal aktarıldığında, aktarılan bölgedeki değişiklik nedeniyle bitkinin fenotipinde ya da kimyasal yapısında beklenmeyen değişiklikler görülebilmektedir (Cellini ve ark., 2004; Latham ve ark., 2006; Rischer ve Oksman-Caldentey. 2006). MON 88017 x MON 810 melez mısır çeşidi, silaj ve tane olarak içerdikleri kimyasal maddeler bakımından anaçları ile karşılaştırıldıklarında da, artışlar ya da azalışlar şeklinde istatistiksel olarak önemli farklılıklar belirlenmiştir (EFSA, 2009).

6.2.2. Tarımsal özellikler

MON 88017 x MON 810 melez mısır çeşidinin, klasik çeşitlerle karşılaştırmalı olarak yapılan tarla denemeleri 2002 yılında Amerika'da dört ayrı lokasyonda gerçekleştirilmiştir. Agronomik özellikler olarak sürme gücü, % 50 çiçek tozu oluşturma gün sayısı, % 50 püskül oluşturma gün sayısı ve bitki boyu gibi özellikler değerlendirmeye alınmıştır. Ayrıca, biyotik ve abiyotik stres koşullarında tane ağırlığı gibi ölçümler de yapılmıştır. Melez mısır ile melez olmayan kontrol çeşitleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar belirlenmiştir. Bu farklılık sadece bir lokasyonda gözlenmiş tüm lokasyonlar birlikte değerlendirildiğinde ise farklılık olmadığı görülmüştür. Fenotipik karakterler ve agronomik performans genel olarak değerlendirildiğinde, MON 88017 x MON 810 melez mısır çeşidi ile klasik kontrol çeşidi arasında, aktarılan üç gen (*cry1Ab*, *cry3Bb1* ve CP4 *epsps*) dışında, fark olmadığı sonucuna varılmıştır (EFSA, 2009).

6.3. Toksikite Değerlendirmesi

MON 88017 x MON 810 melez mısır çeşidini oluşturan anaçlarının (MON 88017 ve MON 810) hayvan yemi olarak tüketilmeleri durumunda, toksisite bakımından klasik çeşitler kadar güvenilir olduğu EFSA'nın önceki raporlarında bildirilmiştir. Melez çeşit, bu iki anacın klasik olarak melezlenmesiyle elde edilmiş ve anaçlarda bulunan *cry1Ab*, *cry3Bb1* ve CP4 *epsps* genlerinin dışında farklı olarak yeni bir genetik değişiklik yapılmamıştır. Yapılan testler sonucunda, bu iki anacın melez çeşitte bir araya gelmesinden kaynaklanan herhangi bir etkileşim söz konusu olamayacağı ve bu nedenle yem güvenliğinin olumsuz etkilenmeyeceği görüşüne varılmıştır (EFSA, 2009). Amerika'da yapılan bir araştırmada, kök kurduna dayanıklılığı sağlayan *cry3Bb1*

genini içeren transgenik mısır çeşidi ile farelere 90 günlük beslenme testi uygulanmıştır. 400 fare cinsiyetlerine göre ayrılmış ve klasik mısır ile beslenenlerle karşılaştırmalı olarak deneme yürütülmüştür. Parametreler olarak, genel sağlık, ağırlık kazanımı, gıda tüketimi, klinik patoloji özellikleri (hematoloji, kan kimyası vb.), organ ağırlıkları ve dokuların mikroskopik görünüşleri gibi verilerden yararlanılmıştır. Araştırma sonucunda, transgenik mısır çeşidinin, besleyiciliği ve güvenliği bakımından, klasik mısır çeşitleri ile benzer olduğu vurgulanmıştır (Hammond ve ark., 2006). Coleoptera takımından zararlılara karşı dayanıklı ve glufosinat amonyum'a toleranslı transgenik DAS-59122-7 mısır çeşidi ile beslenen dişi ve erkek farelere 90 günlük test uygulanan araştırmada ise hematoloji, serum biyokimyası ve patolojik anatomiye ilişkin tüm parametreler, klasik mısır ile beslenenlerle karşılaştırmalı olarak irdelenmiştir. Araştırma sonucunda, transgenik mısır ile beslenen farelerde herhangi bir toksik etki görülmemiş ve transgenik çeşidin klasik kontrol çeşidi kadar güvenli olduğu belirtilmiştir (He ve ark., 2008).

Fransa'da yapılan bir araştırmada ise, *cry3Bb1* geni aktarılmış, kök kurduna dayanıklı transgenik mısır çeşidi ve klasik mısır çeşidinden oluşan kontrol çeşidi ile beslenen farelere 90 günlük test uygulanmıştır. Karaciğer, böbrek, pankreas ve beyin gibi organlarda hepatorenal toksisite parametreleri ve vücut ağırlıkları cinsiyetlere göre iki grup halinde irdelenmiştir. Veriler cinsiyete göre önemli farklılık göstermiştir. Trigliserit değerlerinin dişilerde % 24-40 oranında arttığı; erkeklerin ise böbreklerinde ürin fosfor ve sodyum değerlerinin % 31-35 oranında azaldığı belirlenmiştir. Araştırmacılar çalışmalarının sonunda, inceledikleri transgenik mısır çeşidinin güvenli bir ürün olmadığını vurgulamışlardır (Serolini ve ark., 2007). Farelerde üç temel transgenik mısır çeşidi (NK 603, MON 810 ve MON 863) ile yapılan bir başka karşılaştırmalı besleme analizinde kan ve organlara ilişkin veriler değerlendirilmiştir. Araştırmada, cinsiyete ve dozlara bağlı olarak, transgenik mısır ile beslenen farelerde yeni yan etkilerin ortaya çıktığı belirtilmiştir. Yan etkiler özellikle karaciğer (albumin %-7^{**}, albumin/globulin oranı %-10^{*}) ve böbrek (ürin kreatinin %+42^{**}, potasyum %+13^{*}) gibi toksisite ile doğrudan ilgili organlarda belirlenmiştir. Bunların dışında, kalp, adrenal salgı bezleri, dalak ve hematolojik sistemde de bazı önemli etkiler görülmüştür. Araştırma sonunda, hepatorenal toksisitenin, genetik yapısı değiştirilmiş mısırlardaki glifosata ve böceklerle dayanıklılığı sağlayan genlerden (CP4 *epsps*, *cry1Ab* ve *cry3Bb1*) kaynaklandığı vurgulanmıştır (de Vendomois ve ark., 2009).

6.4. Alerjenite Değerlendirmesi

Rekombinant proteinler, kaynağı ve yapısına bağlı olarak değişmekle birlikte, genellikle potansiyel alerjenler olarak değerlendirilmektedir. Her yeni yem için ayrı değerlendirme yapılmalıdır. MON 88017 x MON 810 melez mısır çeşidi üç yeni gen (CP4 *epsps*, *cry1Ab* ve *cry3Bb1*) içermekte olup, yapılan analizler sonucunda bu genlerin alerji ile ilgili olarak herhangi bir sorun oluşturmadıkları, bu nedenle alerjik bir yem olarak değerlendirilmemesi gerektiği vurgulanmıştır (EFSA, 2009). Genetik yapısı değiştirilmiş ürünlerin potansiyel alerjen olması iki şekilde açıklanmaktadır. Birincisi, transgenik üründe sentezlenen yeni protein, yeni bir alerji kaynağı olabileceği gibi, diğer alerjenlerle etkileşime girerek duyarlı kişilerde etkili olabilir. İkinci olasılık ise, genetik yapısı değiştirilmiş ürünün aslında var olan alerjenitesi, bu genetik değişikliklerle farklı biçime dönüşebilir (Kleter ve Peijnenburg, 2006; Prescott ve Hogan, 2006). Her yeni proteinde olduğu gibi genetik yapısı değiştirilmiş ürünlerde de ayrıntılı biçimde alerjenite testleri yapılmalıdır. Aktarılan yeni genin kaynağının alerji ile ilgili geçmişi irdelenmeli, bu genin oluşturduğu proteinin biyokimyasal yapısı bilinen alerjenlerle karşılaştırılmalıdır. Ürünü kullanacak olanın alerji ile ilgili sorunu biliniyorsa, genetik yapısı değiştirilmiş ürünlerin kullanılması durumunda, potansiyel alerjenite mutlaka dikkate alınmalıdır (Kleter ve Kok, 2010).

6.5. Genetik Değişiklikten Kaynaklanabilecek Beklenmeyen Etkiler

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

Raporun "Kimyasal bileşim (6.2.1)" bölümünde de verildiği gibi, kontrol çeşidi ile karşılaştırıldığında MON 88017 x MON 810 melez mısır çeşidinin tanelerinde, alanin, linoleik asit, araşidik asit ve ferulik asit bakımından önemli artışlar; eikosanoik asit, bakır, potasyum ve B2 vitamini yönünden ise önemli azalmalar belirlenmiştir (EFSA, 2009). Bitki genomlarına yeni bir genetik materyal aktarıldığında, aktarılan bölgedeki değişiklik nedeniyle bitkinin fenotipinde ya da kimyasal yapısında beklenmeyen değişikliklerin oluşabileceği bilinmektedir (Cellini, 2004; Latham ve ark., 2006; Rischer ve Oksman-Caldentey, 2006).

6.6. Çevresel Risk Değerlendirmesi

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

6.6.1. Hedef dışı organizmalara etkisi

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

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

MON 88017 x MON 810 mısır çeşidinde ekim söz konusu olmadığından sadece tane olarak çevresel etkisi irdelenmiştir. Bu durumda, etkilenen hedef dışı organizmalar olarak tane ve tane ürünleriyle beslenebilen böcekler ön plana çıkmaktadır. Transgenik bitkilerde *cry* genleri tarafından üretilen aktif toksinler hedef organizmaların barsağındaki epitelyum hücrelerinin plazma zarında bulunan özel reseptörlere bağlanırlar (Bravo ve ark., 2007; OECD, 2007). Toksin, plazma zarına girerek önce zar içinde gözenekler daha sonra iyon kanalları oluşturarak tahribat yapar. Bu zar girişi işleminin biyokimyasal yapısı tam olarak anlaşılammıştır. Bazı Cry proteinlerinin çoklu reseptörlere sahip olduğu, tek reseptör üzerinde birden çok bağlantı yaptığı ya da toksisite için reseptör bağlantısının gerekli fakat yeterli olmadığı gibi konularda değişik görüşler bulunmaktadır (Aronson ve Shai, 2001; OECD, 2007). Ayrıca, Cry proteinleri ile hedef organizmalar arasında etkileşim olduğu da bilinmektedir (Aronson ve Shai, 2001; Zhang ve ark., 2006). Hedef dışı organizmaların larvaları ve erginleri ile yapılan testler sonucunda; *Apis mellifera* (bal arısı) larvaları, Koleoptera takımından *Hippodamia convergens* (hanım böceği) ve Neuroptera takımından *Chrysoperla carnea* (yeşil dantel kanat) predatörleri, Hymenoptera takımından *Nasonia vitripennis*

paraziti gibi birçok böcek türünde Cry proteininin önemli bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir (OECD, 2007).

Hedef dışı organizmaların olumsuz etkilerine ilişkin de birçok araştırma yapılmış ve sonuçları tartışılmıştır. Cry proteini, transgenik bitkileri tüketen hedef organizmalar için doğrudan, bu proteinin bulaştığı diğer ürünleri tüketen hedef dışı organizmalar için dolaylı etki göstermektedir. Amerika'nın önemli böcek türlerinden olan kral kelebekleri üzerine yapılan bir araştırmada, üzeri transgenik mısır çeşitlerinin çiçek tozları ile kaplı yaprakları yiyen larvaların zarar gördüğü belirtilmiştir (Losey ve ark., 1999). Ayrıca, hanım böceği ve dantel kanat gibi böcek türlerinin öldüğünü bildiren araştırmalar da bulunmaktadır (Hilbeck ve ark., 1998). Bu araştırmalar, Cry proteinlerinin dolaylı toksik etkisini göstermesi bakımından önemlidir. Hedef dışı böceklerin genetik yapısı değiştirilmiş organizmalardan etkilenmesine ilişkin kapsamlı bir çalışma yapan Naranjo (2009), toplam 360 araştırma makalesini laboratuvar ve tarla denemeleri olarak meta analizi ile irdemiştir. Bu konuda yapılan tüm laboratuvar çalışmaları değerlendirildiğinde, hedefi olmayan böceklerin Cry proteinleri ile karşılaştıklarında, bir kısmının dayanıklı bir kısmının ise dayanıksız olduğu belirlenmiştir. Zararlıların doğal düşmanları olan böceklerin, Cry proteinlerinin etkisinde kalmaları halinde, özellikle predatörlerin gelişim oranlarında istatistiksel açıdan önemli düzeyde azalma olduğu belirlenmiştir. Ancak, Cry proteinlerinin bu böceklerin canlılıklarına herhangi bir olumsuz etkisi belirlenmemiştir. Üreme oranında belirlenen azalmalar ise istatistiksel olarak önemli düzeyde bulunmamıştır. Önemli artropodlardan olan arılar, kral kelebekleri ve ipek böcekleri gibi canlıların ve transgenik bitkilerin özel hedefi olmayan otçul böcekler ve tozlayıcı böceklerin de Cry proteinlerine farklı tepki gösterdikleri belirlenmiştir. Otçul zararlıların gelişmelerinde ve canlılıklarında önemli düzeyde azalma görülmesine karşın, tozlayıcılar bu öğeler bakımından Cry proteinlerinden etkilenmemişlerdir. Bu konuda yapılan tüm alan denemeleri irdelendiğinde ise, zararlılarla mücadelede önemli bir yeri olan doğal düşmanların Cry proteinlerinden istatistiksel açıdan önemli ölçüde olumsuz yönde etkilendiği; transgenik mısır alanlarında doğal düşmanların belli oranda azalmasına karşın bu azalmanın istatistiksel açıdan önemli olmadığı belirlenmiştir. Araştırmalar, çalışmanın yapıldığı laboratuvar ya da alan denemelerine göre de hedef olmayan organizmaların tepkilerinin farklı olduğunu göstermektedir. Ayrıca, kontrolü daha iyi sağlandığından, laboratuvar çalışmalarının alan denemelerine oranla güvenilirliğinin yüksek olduğu bildirilmiştir (Naranjo, 2009).

6.6.2. Bitkiden bitkiye gen geçişleri

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

Transgenik çeşitlerden diğer çeşit ve türlere doğrudan gen geçişleri üzerinde de farklı görüşler vardır. Bilindiği gibi, transgenik mısır çeşitleri (*Zea mays* ssp. *mays*) ile yabani mısır çeşitleri (*Zea mays* ssp. *mexicana*), yakın akraba olduklarından, genetik olarak uyum sağlarlar. Bu nedenle, çiçektozu aracılığı ile gen geçişlerinin mümkün olduğu ancak, izolasyon mesafesine dikkat edildiği sürece, bunun bir sorun oluşturmadığı belirtilmektedir. Örneğin, transgenik mısır çeşitlerinin yaygın olarak yetiştirildiği ABD ve Kanada'da yabani mısır çeşidi bulunmadığından, bu ülkelerde riskin söz konusu olmadığı vurgulanmaktadır (Anonim, 2009). Ancak, sorun sadece yabani gen kaynakları ile sınırlı değildir. Mısır bitkileri yabancı döllenen ve çiçek tozlarını canlı olarak çok uzak mesafelere gönderebilen bitki türlerindedir. Bu nedenle, transgenik çeşitlerden klasik kültür çeşitlerine de gen geçiş olasılığı çok yüksektir. Örneğin, Teksas'da son derece korumalı koşullarda yetiştirilen organik mısır çeşidi "Terra Prima"ya, çiçektozu aracılığı ile transgenik mısır özellikleri geçtiğinden, ürünün tamamı toplatılarak yok edilmiştir (Bett, 1999).

6.6.3. Bitkiden bakteriye gen geçişleri

Transgenik mısır bitkisinin, taşıma ve yem amaçlı işleme esnasında kazayla ya da bu ürün ile beslenen hayvanların sindirim sisteminden dışkı ile çevreye doğrudan ya da dolaylı olarak yayılan Cry proteinlerinin toprak organizmalarına olan etkisi irdelendiğinde, transgenlerin antibiyotiğe dayanıklılık ve toksisite oluşturan özellikleri dikkat çekmektedir. Antibiyotiğe dayanıklı bir çok bakterinin, transgenik gıdalar tüketilmediği zaman da ortaya çıkabildiği bilinmektedir (Salyers, 1997; Smalla ve ark., 1997). Hastanelerde, çevrede ve gıdalarda birden fazla ilaca dayanıklı bakterilerin bulunması (Perreten ve ark., 1997), transgenik bitkilerin dayanıklı bakteri oluşturmada yeni bir gen havuzu oluşturmadığını göstermektedir (Anonim, 2009).

Melez mısır ve anaçları ile yapılan çalışmada, tanelerde Cry1Ab ve Cry3Bb1 proteinlerinin miktarı çok düşük olduğundan, bunlardan çevreye yayılan protein miktarının da düşük olduğu belirlenmiştir. Altı farklı tarladan alınan örneklerde ELISA ve "Western Blot" tekniklerinden yararlanılarak yapılan testler sonucunda transgenik mısır çeşidinde (MON 810) Cry1Ab proteininin taze ağırlık olarak yaprakta 9,35 ug/g, tanede 0,37 ug/g, çiçektozunda 0,09 ug/g, tüm bitkide ise 4,15 ug/g düzeyinde biriktiği saptanmıştır (Anonim, 2009). Amerika ve Fransa'da 1994 ve 1995 yıllarında yapılan tarla araştırmalarında ise, transgenik bitkilerin hedef dışı organizmalara olumsuz etkilerinin olmadığı ve popülasyondaki miktarlarının klasik çeşitlere oranla farklılık göstermediği belirlenmiştir (Anonim, 2009). Bu proteinlerin sindirim sisteminde enzimlerle parçalanması, transgen özelliğinin kaybolmasının (Anonim, 1988) yanında hayvan dışkılarında miktarlarının da düşük olmasını sağlamaktadır. Ayrıca, dışkılardaki mikrobiyal işlemler de bu proteinlerin çevreye yayılmalarını önlemede etkili olmaktadır. Topraktaki kil mineralleri tarafından Cry proteinlerinin tutulması da yayılmayı önleyen bir başka faktör olarak bilinmektedir. Bu nedenlerden dolayı, transgenik bitkilerden geçen Cry proteinlerinin toprakta birikmesi mümkün görülmemektedir (EFSA, 2009).

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

Japonya'da, PCR ve immünolojik testlerden yararlanılarak yapılan bir araştırmada, Bt11 transgenik mısır çeşidi ile beslenen domuzlarda Cry1Ab proteininin sindirim sisteminde tam olarak parçalanmadığı belirlenmiştir (Chowdhury ve ark., 2003). Transgenik DNA'nın, tarla koşullarında çiçektozu aracılığı ile arı larvalarının bağırsaklarındaki bakterilere (Bergelson ve ark., 1998); laboratuvar koşullarında ise toprak bakteri ve mantarlarına geçtiğine (Schluter ve ark., 1995) ilişkin çok sayıda araştırma bulunmaktadır. Bitki ve bakteri arasındaki yatay gen geçişleri, transgenik bitkilerdeki antibiyotiğe dayanıklılık geninin bakterilere geçme olasılığı nedeniyle önemli bir risk oluşturmaktadır (Bergmans, 1993; Rissler ve Mellon, 1993). Antibiyotiğe dayanıklı markör genlerin, transgenik bitki yaprağından toprak bakterisi *Acinetobacter*'e kolaylıkla geçebildiği bilinmektedir (De Viries ve Wackernagel, 1998; Gebhard ve Smalla, 1999). Bu nedenlerle, transgenik bitkilerde antibiyotiğe dayanıklılığı sağlayan bazı markör genlerin kullanımı birçok AB üyesi ülkede yasaklanmıştır. Görüldüğü gibi, yatay gen geçişlerinin olabileceği birçok araştırmacı tarafından kabul edilmektedir. Ancak bunların etkileri konusunda farklı görüşler söz konusudur.

7. GENEL SONUÇ ve ÖNERİLER

Üç Numaralı Risk Değerlendirme Komitesi, Coleoptera ve Lepidoptera takımlarına bağlı bazı zararlı türlere dayanıklılığın (Cry3Bb1 ve Cry1Ab) ve glifosat'a toleransın (CP4 EPSPS) sağlanması amacı ile genetiği değiştirilmiş MON 88017 x MON 810 mısır çeşidinin yem amaçlı ithal edilmesinin risklerini değerlendirmiştir. Rapor hazırlanırken; çeşitle ilgili ithalatçı firmaca dosyada sunulan belgeler, risk değerlendirilmesi yapan muhtelif kuruluşların (EFSA, OECD, WHO, FAO ve Japonya Çevre Bakanlığı) görüşleri ve bilimsel araştırmaların sonuçları göz önünde bulundurulmuştur. Risk değerlendirmesi; gen aktarım yöntemi, aktarılan genin moleküler yapısı, çeşidin kimyasal bileşimi ve tarımsal özellikleri, toksisite, alerjenite, genetik yapıdan kaynaklanan beklenmeyen etkiler ve çevresel etkileri gibi konular dikkate alınarak yapılmıştır.

Üç Numaralı Bilimsel Risk Değerlendirme Komitesi;

- Coleoptera takımına bağlı zararlılara dayanıklı ve glifosat'a toleranslı MON 88017 ile Lepidoptera takımına bağlı zararlılara dayanıklı MON 810'un klasik olarak melezlenmesi sonucunda elde edilen ve bu özelliklerin tümünü içeren melez mısır çeşidinde (MON 88017 x MON 810), her bir gen için gerçekleştirilen transformasyon ve sonrasında integrasyonun stabil olduğu, aktarılan DNA parçalarının yapılarının bozulmadan genomda yer aldığı,
- MON 88017 x MON 810 melez mısır çeşidinin genetiği değiştirilmemiş ticari mısır çeşidi ile benzer yemlik özelliklere ve bileşime sahip olduğu, ancak herbisit uygulama rejimlerine bağlı olarak farklı çevre koşullarının etkili olabileceğinin göz ardı edilmemesi gerektiği,
- aktarılan genlerin moleküler yapı ve anlatım analizlerinden, MON 88017 ve MON 810 mısır anaçları arasında yapılacak melezleme çalışmaları sırasında söz konusu genlerin birbirleriyle etkileşim içine girerek tarımsal değişikliklere neden olabilecek yeni proteinlerin sentezlenmesine yol açmayacakları; MON 88017 x MON 810 melez mısır çeşidinin toksisite yönünden genetik olarak değiştirilmemiş eşdeğeriyle benzer olduğu,
- MON 88017 x MON 810 melez mısır çeşidinin alerjenite yönünden genetik olarak değiştirilmemiş eşdeğeriyle benzer olduğu, ancak potansiyel alerjenitenin göz ardı edilmemesi gerektiği,
- bir organizmaya başka bir organizmadan aktarılan genetik materyalin mevcut genetik materyallerle allelik olmayan gen interaksiyonlarına girmesi durumunda, önceden kestirilmeyen birtakım sonuçları da zaman içinde ortaya çıkabileceği; allelik olmayan gen interaksiyonları ve çevre ile olabilecek interaksiyonlar nedeniyle yeni genotipin patojenlerle ilişkileri ve çeşitli kimyasal savaşım araçlarına olan tepkimelerinde de değişiklik olabileceğinin göz önünde tutulması gerektiği,
- mısırın yabancı dölllenme özelliği nedeniyle, yayılacak genlerin çevresel etkileri açısından genetik yapısı değiştirilmiş MON 88017 x MON 810 melez mısır çeşidi ile genetik yapısı değiştirilmemiş ticari melez çeşitleri ve anaçlar olan MON 88017 ve MON 810 arasında fark olmadığı; ancak hedef dışı organizmalara istem dışı yollarla gen geçişlerinin olabileceği, kullanım amacının yemlik olması nedeniyle bu konunun ikinci planda kalabileceği, fakat çeşitli deney hayvanların endojen ve transgenik DNA parçalarını çeşitli yollarla doğaya salabilecekleri,

sonucuna varmıştır.

Yukarıdaki açıklamaların ışığında, genetiği değiştirilmiş MON 88017 x MON 810 melez mısır çeşidinin '**yalnızca yem olarak**' kullanılmasının uygun olduğu kanısına varmıştır.

8. RİSK YÖNETİMİ

Risk yönetiminin planlanması ve bu planının uygulanması "Risk Değerlendirme Komitesi"nin sorumluluğu dışındadır. MON 89034 x NK603 mısır çeşidine ait tohumların taşınma ve işlenmesi sırasında kazayla çevreye yayılması sonucu olası çevre ve biyoçeşitliliğe ilişkin riskler ortaya çıkabilir. Bu durumda, 5977 sayılı "Biyogüvenlik Kanunu", ilgili yönetmelikleri ve Biyogüvenlik Kurulu kararları uyarınca;

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

hususunda belirtilen konulara titizlikle uyulmalıdır.

Bunlara ek olarak, bu çeşidin ürünleri ile beslenen hayvanların ve ürünlerinin periyodik olarak kontrol edilmesinin izleme kapsamına alınmalıdır.

9. KAYNAKLAR

- Accinelli, C., Koskinen, W.C., Becker, J.M. and Sadowsky, M.J., 2008. Mineralization of the *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac endotoxins in soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56: 1025-1028.
- Anonim, 1988. Guidance for the registration of pesticide products containing *Bacillus thuringiensis* as an active ingredient. NTIS PB 89-164198.
- Anonim, 2009. MON 810 Environmental risk assessment case study. www.agbios.com/cstudies.php?book=ESA&ev=MON810.
- Anonim, 2004. Outline of the biological diversity risk assessment report: Type 1, use approval for MON810 x NK603 Japanese Biosafety Clearing House, Ministry of Environment. Monsanto Japan Limited, Ginza Sanno Bldg. 8F, 4-10-10, Ginza, Chuo-ku, Tokyo, p. 32.
- Aronson, A.I. and Shai, Y., 2001. Why *Bacillus thuringiensis* insecticidal toxins are so effective: unique features of their mode of action. *FEMS Microbiology Letters* 195: 1-8.
- Bergelson, J., Purrington, C.B. and Wichmann, G. 1998. Promiscuity in transgenic plants. *Nature*, 395: 25.
- Bergmans, H., 1993. Acceptability of the use of antibiotic resistance genes as marker genes in transgenic plants. P. 106-108. *In: OECD Report on the Scientific Approaches for the Assessment of Research Trials with Genetically Modified Plants*. April 6-7, 1992. Jouy-en-Josas.
- Bett, K.S., 1999. Mounting Evidence of genetic pollution from GE crops growing evidence of widespread GDO. www.purefood.org/ge/gepollution.cfm.
- Bravo, A., Gill, S.S. and Soberon M., 2007. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. *Toxicon*. 49(4): 423-435. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1857359>.
- Cellini, F., Chesson, A., Colquhoun, I., Constable, A., Davies, H.V., Engel, K., Gatehouse, A.M.R., Karenlampi, S., Kok, E.J., Leguay, J.J., Lehesranta, S., Noteborn, H.P.J.M., Pedersen, J. and Smith, M. 2004. Unintended effects and their detection in genetically modified crops. *Food. Chem. Toxicol.*, 42: 1089-1125

- Chowdhury, E.H., Kuribara, H., Hino, A., Sultana, P., Mikami, O., Shimada, N., Gruge, K.S., Saito, M. and Nakajima, Y., 2003. Detection of corn intrinsic and recombinant DNA fragments and Cry1Ab protein in the gastrointestinal contents of pigs fed genetically modified corn Bt11. *J. Anim. Sci.*, 81: 2546-2551.
- Craig, W., Tepfer, M., Degrassi, G. and Ripandelli, D., 2008. An overview of general features of risk assessments of genetically modified crops. *Euphytica*, 164: 853–880.
- Crecchio, C. and Stotsky, G., 1998. Insecticidal activity and biodegradation of the toxin from *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki* bound to humic acids from soil. *Soil Biology and Biochemistry* 30 (4): 463-470.
- De Vendômois, J.S., Roullier, F., Cellier, D. and Séralini G., 2009. A comparison of the effects of three GM corn varieties on mammalian health. *Int. J. Biol. Sci.*, 7: 706–726.
- De Vries, J. and Wackernagel, W., 1998. Detection of *nptII* (kanamycin resistance) genes in genomes of transgenic plants by marker-rescue transformation. *Mol. Gen. Genet.* 257: 606-613.
- EFSA, 2009. Scientific Opinion: Application (Reference EFSA-GMO-CZ-2006-33) for the placing on the market of the insect-resistant and glyphosate-tolerant genetically modified maize MON 88017 x MON 810, for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Monsanto. *The EFSA Journal*, 1192: 1-27.
- FAO/WHO, 2000. Safety aspects of genetically modified foods of plant origin. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Foods Derived from Biotechnology, World Health Organisation (WHO), Geneva, Switzerland, p 35.
- Gebhard, F. and Smalla, K., 1999. Monitoring field releases of genetically modified sugar beets for persistence of transgenic plant DNA and horizontal gene transfer. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 28: 261-272.
- Hammond, B., Lemen, J., Dudek, R., Ward, D., Jiang, C., Nemeth, M. and Burns, J., 2006. Results of 90-day safety assurance study with rats fed grain from corn rootworm-protected corn. *Food Chem. Toxicol.*, 44, 147–160.
- He, X.Y., Huang, K.L., Li, X., Quin, W., Delaney, B. and Luo, Y.B., 2008. Comparison of grain from corn rootworm resistant transgenic DAS-59122-7 maize with non/transgenic maize grain in a 90-day feeding study in Sprague-Dawley rats. *Food Chem. Toxicol.* 46: 1994-2002.
- Hilbeck, A., Baumgartner, M., Fried, P.M. and Bigler, F., 1998. Effect of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn-fed prey on mortality and development time of immature *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environmental Entomology*, 27: 480-487.
- Jonas, D.A., Elmadfa, I., Engel, K.H., Heller, K.J., Kozianowski, G., König, A., Müller, D., Narbonne, J.F., Wackernagel, W. and Kleiner, J., 2001. Safety considerations of DNA in food. *Ann. Nutr. Metab.*, 45: 235–254.
- Kleter, G.A. and Kok, E.J., 2010. Safety assessment of biotechnology used in animal production, including genetically modified (GM) feed and GM animals – a review. *Animal Sci. Pap. and Rep.* 2: 105-114.
- Kleter, G.A. and Peijnenburg A.A.C.M., 2006. Prediction of the potential allergenicity of novel proteins, Chapter 10. In: Gilissen LJEJ, Wichers HJ, Savelkoul HFJ, Bogers RJ (eds) *Allergy matters. New Approaches to Allergy Prevention and Management Series: Wageningen UR Frontis Series*, vol 10, p 205.
- Koskella, J. and Stotzky, G., 1997. Microbial utilization of free and clay-bound insecticidal toxins from *Bacillus thuringiensis* and their retention of insecticidal activity after incubation with microbes. *Applied and Environmental Microbiology* 63 (9): 3561-3568.
- Latham, J.R., Wilson, A.K. and Steinbrecher, R.A., 2006. The mutational consequences of plant transformation. *J Biomed. Biotechnol.*, 25376: 1–7.
- Losey, J.E., Rayor, L.S. and Carter, M.E., 1999. Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature* 399:214.
- Marchetti, E., Accinelli, C., Talame, V. and Epifani, R., 2007. Persistence of Cry toxins and *cry* genes from genetically modified plants in two agricultural soils. *Agronomy for Sustainable Development* 27 (3): 231-236.
- Naranjo, S.E., 2009. Impact of *Bt* crops on non-target invertebrates and insecticide use patterns. *CAB Rev. Perspectives Agric. Vet. Sci. Nutrit. Nat. Resour.*, 4 (11): 23 p.

- Nielsen, K.M., Smalla, K., van Elsas, J.D., 2000. Natural Transformation of *Acinetobacter* sp. Strain BD413 with Cell Lysates of *Acinetobacter* sp., *Pseudomonas fluorescens*, and *Burkholderia cepacia* in Soil Microcosms. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 206-212.
- OECD, 2000. Report of the task force for the safety of novel foods and feeds, May 2000. C(2000)86/ADD1. Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), Paris, 72.
- OECD, 2002. Consensus document on compositional considerations for new varieties of maize (*Zea mays*): Key food and feed nutrients, anti-nutrients and secondary plant metabolites. ENV/JM/MNO, 6: 1-42.
- OECD, 2007. Consensus document on safety information on transgenic plants expressing *Bacillus thuringiensis* – derived insect control proteins. Series on Harmonisation Regulatory Oversight in Biotechnology, Number 42 Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), Paris, 109 pp.
- Paget, E. and Simonet, P., 1997. Development of engineered genomic DNA to monitor the natural transformation of *Pseudomonas stutzeri* in soil-like microcosms. *Can. J. Microbiol.*, 43: 78-84
- Pawlowski, W.P. and Somers, D.A., 1996. Transgene inheritance in plants genetically engineered by microprojectile bombardment. *Molecular Biotechnology*, 6: 17-30.
- Perreten, V., Schwarz, F., Cresta, L., Boeglin, M., Dasen, G. and Teuber, M., 1997. Antibiotic resistance spread in food. *Nature*, 389: 801-802.
- Prescott, V.E. and Hogan, S.P., 2006. Genetically modified plants and food hypersensitivity diseases: usage and implications of experimental models for risk assessment. *Pharmacol. Ther.* 111: 374–383
- Rischer, H. and Oksman-Caldentey, K.M., 2006. Unintended effects in genetically modified crops: revealed by metabolomics? *Trends Biotechnol.*, 24 (3) :102–104.
- Rissler, J. and Mellon, M., 1993. Perils amidst the promise. Ecological risks of transgenic crops in a global market. Union of Concerned Scientists, Cambridge, MA.
- Salyers, A., 1997. Horizontal gene transfer between prokaryotes. Nordic Seminar on Antibiotic Resistance Marker Genes and Transgenic Plants, p. 8-16. June 12-13, 1997, Oslo, Norway. The Norwegian Biotechnology Advisory Board.
- Sanvido, O., Romeis, J and, Bigler, F. ,2007. Ecological impacts of genetically modified crops: ten years of field research and commercialcultivation. *Adv Biochem Eng Biotechnol* 107:235–278.hea
- Séralini, G., Cellier, D. and de Vendomois, J.S., 2007. New analysis of a rat feeding study with a genetically modified maize reveals signs of hepatorenal toxicity. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 52: 596–602.
- Smalla, K., Wellington, E. and van Elsas, J.D., 1997. Natural background of bacterial antibiotic resistance genes in the environment. Nordic Seminar on Antibiotic Resistance Marker Genes and Transgenic Plants, p. 8-16. June 12-13, 1997, Oslo, Norway. The Norwegian Biotechnology Advisory Board.
- Stewart, K.K., Food Composition and Analysis in the Assessment of the Safety of Food Produced by Biotechnology, *Food Technology*, March 1992, pp. 103-107.
- Srivastava, V. and Anderson, O.D.,1999. Single-copy transgenic wheat generated through the resolution of complex integration patterns. *Pros Nat. Acad. Sci. USA*, 96: 11117-11121.
- Schluter, K., Futterer, J. and Potrykus, I., 1995. Horizontal gene-transfer from a transgenic potato line to a bacterial pathogen (*Erwinia-chrysanthem*) occurs, if at all, at an extremely low-frequency. *Bio/Technology*, 13: 1094–1098.
- Van den Eede, G., Aarts, H., Buhk, H.J., Corthier, G., Flint, H.J., Hammes, W., Jacobsen, B., Midvedt, T., Van der Vossen, J., von Wright, A., Wackernagel, W. and Wilcks, A., 2004. The relevance of gene transfer to the safety of food and feed derived from GM plants. *Food. Chem. Toxicol.* 42:1127–1156.
- Zhang, X., Candas, M., Griko, N.B., Taussig, R. and Bulla, L.A., 2006. A mechanism of cell death involving an adenylyl cyclase/PKA signaling pathway is induced by the Cry1Ab toxin of *Bacillus thuringiensis*. *Proceedings of the National Academies of Science (U.S.A.)* 103 (26): 9897-9902.