

YEM AMACIYLA İTHALİ İSTENEN GENETİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ (MON 89034 x NK603) MISIR ÇEŞİDİ ve ÜRÜNLERİ İÇİN BİLİMSEL RİSK DEĞERLENDİRME RAPORU

1. RAPORUN HAZIRLANIŞ GEREKÇESİ ve DAYANAKLARI

Bu rapor, glifosat (CP4 EPSPS) herbisitine toleranslı ve *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* bakterisine ait *cry1A105*, *cry2Ab2* genlerinin aktarılmasıyla hedef böceklere dayanıklı, genetiği değiştirilmiş mısır çeşidinin yem amaçlı ithalatı için, 5977 sayılı Biyogüvenlik Kanunu ve ilgili yönetmelik uyarınca Biyogüvenlik Kurulu'nun 03.03.2011 tarih ve 6 no'lu kararı ile oluşturulan ve bu karar doğrultusunda görevlendirilen "3 Numaralı Risk Değerlendirme Komitesi" tarafından hazırlanmıştır.

Rapor hazırlanırken çeşitle ilgili ithalatçı firmaca dosyada sunulan belgeler, risk değerlendirmesi yapan muhtelif kuruluşların (EFSA, JRC/CRL-GMFF, WHO, FAO, FDA ve Japonya Çevre Bakanlığı) görüşleri ve bilimsel araştırmaların sonuçlarını içeren makaleler ile farklı ülkelerde kullanım durumları 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 etkiler gibi konular dikkate alınarak yapılmıştır.

2. İTHALATÇI KURULUŞLAR

- 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 89034 x NK603; *Agrobacterium* CP4 suşundan elde edilen CP4 EPSPS proteiniyle sağlanan glifosat'a toleranslı ve *B. thuringiensis* var. *kurstaki* bakterisine ait *cry1A105*, *cry2Ab2* genlerinin

ürettiği toksinlerin Lepidoptera takımında yer alan bazı zararlı hedef türlere dayanıklı olarak tanımlanan melez mısır çeşididir.

4. ÇEŞİDİ GELİŞTİREN KURULUŞ

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

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

5. ÇEŞİDİN GELİŞTİRİLME AMACI

Monsanto firması MON 89034 x NK603 mısır çeşidini glifosat'a toleranslı ve Lepidoptera takımında yer alan bazı zararlı hedef türlere dayanıklılık amacıyla geliştirmiştir.

6. RİSK ANALİZİ ve DEĞERLENDİRMESİ

MON 89034 x NK 603 mısır çeşidine ve ürünlerine ait bilimsel risk analiz ve değerlendirmesi; bu çeşidin geliştirilmesinde kullanılan gen aktarım yöntemi, aktarılan genlerin ve ürünlerinin moleküler tanımlanması, çeşidin muhtemel alerjik ve toksik etkileri ile çevre ve biyolojik çeşitlilik üzerine olası riskleri dikkate alınarak hazırlanmıştır.

Bu çeşitle ilgili bilimsel risk değerlendirilmesi yapılırken, çeşitle ilgili ithalatçı firma tarafından sunulan dosyadaki belgeler, risk değerlendirmesi yapan kuruluşların (EFSA, JRC/CRL-GMFF, WHO, FAO, FDA ve Japonya Çevre Bakanlığı) görüşleri ve bilimsel araştırmaların sonuçlarını içeren makaleler (alerjik ve toksik etki analizleri, genetik modifikasyonun stabilitesi, hedef dışı organizmalara etkisi vb.) ile farklı ülkelerde kullanım durumları göz önünde bulundurulmuştur. Bu genetiği değiştirilmiş çeşitle yapılan çalışmalar incelenerek, yem olarak kullanımı sonucu ortaya çıkabilecek riskler değerlendirilmiştir. Ayrıca, bu çeşide ait tohumların istem dışı ile doğaya yayılması halinde ortaya çıkabilecek tarımsal ve çevresel riskler de dikkate alınmıştır.

6.1. Moleküler Genetik Yapı Tanımlanması ve Risk Değerlendirmesi

6.1.1. Aktarılan genleri taşıyan vektörlerin yapısı ve gen aktarım yöntemi

MON 89034 x NK603 çeşidinde Çizelge 1'de belirtilen genetik elementler bulunmakta ve gen aktarımı amacıyla MON 89034 çeşidinde PV-ZMIR245 ve NK603 çeşidinde ise PV-ZMGT32L plazmitleri kullanılmıştır.

Çizelge 1. MON 89034 x NK603 çeşidine aktarılan genler ve kaynakları

Aktarılan genler (MON 89034):	
<i>cry1A105</i> ve <i>cry2Ab2</i>	Kaynak: <i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>
Aktarılan genler (NK603):	
CP4 <i>epsps</i>	Kaynak: <i>Agrobacterium</i> ssp. CP4

Melez mısır çeşidinin geliştirilmesinde, Lepidoptera takımında yer alan bazı zararlı hedef türlere (örn. *Ostrinia nubilalis*, *Helicoverpa zea*) dayanıklılık sağlayacak Cry1A105 ve Cry2Ab2 proteinlerini üreten MON 89034 ve glifosat'a tolerans sağlayacak CP4 EPSPS proteinini ifade eden NK603 çeşitleri kullanılmıştır.

MON 89034 x NK603 melez mısır çeşidi; *A. tumefaciens* aracılığıyla gen aktarılmış MON 89034 ve partikül bombardımanı yöntemiyle gen aktarılmış NK603'ün klasik yöntemle melezlenmesi ile elde edilmiştir.

6.1.2. Aktarılan genlerin moleküler yapısı, anlatımı ve stabilitesi

JRC laboratuvarlarında doğrulanan verilere göre MON 89034'de iki ayrı T-DNA bulunmaktadır. T-DNA I *cry1A105* ve *cry2Bb2* gen kasetlerini içermektedir. T-DNA II, neomisin, kanamisin ve paromomisin gibi antibiyotiklere tolerans sağlayan *nptII* anlatım kasetini içermektedir. İki T-DNA'nın kullanımı klasik ıslah yoluyla iki farklı T-DNA'nın birleşimini kolaylaştırmaktadır. Southern blot analizi sonucunda MON 89034 mısır çeşidinin tek lokusta bir kopya T-DNA I içerdiği, *nptII* (T-DNA II)'nin bulunmadığı ve vektör iskeletinin olmadığı beyan edilmektedir (EFSA, 2009a).

NK603 mısır çeşidinde kullanılan plazmit kloroplast transit peptid (*ctp*) dizisiyle kaynaştırılan CP4 *epsps* geninin tek bir kopyasını bitişik iki plazmit anlatım kaseti içermektedir. Birinci *ctp*-CP4 *epsps* kasetini kodlayan diziler *ctp* yönünde dizileri tanıyan çeltik aktin promotörü ve bir çeltik intron

dizisi tarafından düzenlenmektedir. İkinci kasetin (*ctp2-CP4 epsps*) anlatımı bir ısı şok proteinini kodlayan genden türemiş mısır intronu ve zenginleştirilmiş CaMV 35S promotörü tarafından düzenlenmektedir. İkinci kasette 214. pozisyondaki lösin amino asidinin yerini prolin amino asidinin alması sonucunda oluşan mutant gen kaseti CP4 EPSPS L214P'yi sentezlemektedir. Ancak bu mutant protein orijinal gen kasetinin sentezlediği CP4 EPSPS ile yapısal ve işlevsel olarak benzerdir. Çeşidin geliştirilmesinde kullanılan vektörün aynı zamanda kanamisin direnci için bir *npfl* bakteriyel seçici markör gen ve bir replikasyon orijini (*ori*) bulundurduğu rapor edilmiştir (EFSA, 2009). NK603 mısır çeşidine aktarılan genleri göstermek için yapılan Southern blot analizi, PCR ve DNA dizi analizleri sonucunda bu çeşitte PV-ZMGT32L'nin tek kopya olarak yerleştiği gösterilmiştir. RT-PCR analiz sonuçlarına göre aktarılan genlerin tespit edilebilir bir transkripsiyona uğramadığı belirtilmektedir. Southern blot analiz yöntemi ile NK603'e aktarılan genin tek bir aktarma bölgesiyle uyumlu ve kararlı olduğu vurgulanmıştır (EFSA, 2009a).

6.2. Kimyasal Bileşim ve Tarımsal Özelliklerin Değerlendirilmesi

2004-2005 yılları arasında Arjantin'de yapılan tarla denemelerinde MON 89034 x NK603 mısır çeşidi, genetik yapısı benzer olan klasik LH198 x LH172 (H1325023 olarak da adlandırılır) çeşidi ile karşılaştırılmıştır (EFSA 2009a).

6.2.1. Kimyasal bileşimi

MON 89034 çeşidinde, transgenik olmayan kontrol çeşidine (LH198 x LH172) göre ferulik, eikosanoik, stearik ve araşidik asit, mangan, fosfor ve B2 vitamin düzeylerinde kayda değer değişimler göstermediği belirtilmiştir. Tüm bu değişimlerin, klasik ıslah yöntemleri ile geliştirilmiş mısır çeşitlerinin doğal varyasyon sınırları içerisinde kaldığı belirtilmiştir (ILSI, 2008).

NK603 çeşidinde amino asit, yağ asitleri, mineraller, E vitamini, fitik asit ve tripsin inhibitörü yönünden yapılan analizler sonucunda ilgili transgenik olmayan kontrol çeşide (LH198 x LH172) göre önemli farklılıklar olmadığı bildirilmiştir.

MON 89034 x NK603 çeşidinde protein, yağ, kül, nem, asidik ve nötral deterjan lifleri, kalsiyum, fosfor ve karbonhidrat miktarları hesaplanmıştır. Ayrıca, tohumlarda asidik, nötral ve toplam deterjan lifleri, amino asitler, yağ asitleri, vitaminler (B1, B2, B6, E, niasin, ve folik asit), mineraller (kalsiyum, bakır, demir, mangan, magnezyum, potasyum, fosfor, sodyum ve çinko), fitik asit, rafinoz ve sekonder metabolitler (furfural, ferulik asit, p-kumarik asit) analiz edilerek bu değerlerin

klasik ıslah yöntemleri ile geliştirilmiş mısır çeşitlerinin doğal varyasyon sınırları içerisinde kaldığı belirlenmiştir.

MON 89034 x NK603 çeşidi ile ilgili yapılan tarla denemeleri ve biyolojik çeşitlilik açısından yapılan değerlendirmeler sonucunda, ilgili çeşidin transgenik olmayan kontrol çeşide (LH198 x LH172) göre içerik açısından eşdeğer olduğu bildirilmiştir. Söz konusu çeşidin ürünleri işlendiğinde de kimyasal yapıda önemli bir değişiklik olmadığı ifade edilmiştir (EFSA, 2009a).

6.2.2. Tarımsal özellikler

Daha önceki çalışmalar, genetik olarak değiştirilmiş bu mısırların fenotipik olarak ya da tarımsal açıdan, geleneksel mısır varyetelerine eş değer olduğunu göstermektedir (EFSA 2003a, 2003b, 2008, 2009a).

MON 89034 x NK603 çeşidinde tane nemi ve verimi ile hektolitreye ağırlığı gibi özellikler incelenmiş ve bu özellikler açısından ilgili transgenik olmayan klasik ıslah yöntemleri ile geliştirilmiş mısır çeşitlerinin (kontrol çeşide) (LH198 x LH172) göre anlamlı herhangi bir değişiklik içermediği belirlenmiştir (EFSA 2009a).

6.3. Toksikite Değerlendirmesi

Toksikolojik yönden yapılan değerlendirmeler sonucunda MON 89034, NK603 anaçları ile MON 89034 x NK603 melez çeşidi arasında önemli farklar bulunmadığı gösterilmiştir.

MON 89034 x NK603 çeşidinde Cry1A105, Cry2Ab2, CP4 EPSPS ve CP4 EPSPS L214P proteinleri dışında yeni bir bileşim ve mısır bileşiminde kayda değer değişim saptanmadığı bildirilmiştir (EFSA 2009a). Japonya Çevre Bakanlığı raporuna göre ise CP4 EPSPS L214P modifiye edilerek lösin amino asidi yerine serin amino asidi yerleştirilerek mutasyon oluşturulmuştur. Başvuru dosyasında yer alan, çeşidi geliştiren firmaya ait rapora göre söz konusu modifikasyon EFSA raporu ile uyumludur.

MON 89034 x NK603 çeşidinin fareler üzerinde yapılan 90 gün besleme testi sonucunda, gıda ve yem maddesi olarak kullanımına yönelik sorun saptanmamıştır (EFSA, 2009a). Yapılan toksikolojik analizler sonucunda test grupları arasında herhangi bir sorun saptanmadığından deney hayvanları ile ilave çalışmalara gerek görülmediği belirtilmiştir.

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 besleme denemesi yapılmıştır. 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 rin fosfor ve sodyum değerlerinin % 31-35 oranında azaldığı belirlenmiştir. Araştırmacılar çalışmalarının sonunda, inceledikleri transgenik mısır çeşidinin güvenli bir ürün olmadığını vurgulamışlardır (Seralini ve ark., 2007). Farelerde üç temel transgenik mısır eşidi (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 (rin kreatinin %+42, potasyum %+13) gibi toksisite ile doğrudan ilgili organlarda belirlenmiştir. Bunların dişinde, kalp, adrenal salgı bezleri, dalak ve hematolojik sistemde de bazı önemli etkiler görülmüştür. Araştırma sonunda, hepatorenal toksisitenin, genetik yapısı değiştirilmiş mısırlardaki glifosata ve böceklere dayanıklılığı sağlayan genlerden (CP4 *epsps*, *cry1Ab* ve *cry3Bb1*) kaynaklandığı vurgulanmıştır (de Vendomois ve ark., 2009).

6.4. Alerjenite Değerlendirmesi

MON 89034 x NK603 eşidi, anaçları ve klasik ışlah yöntemi ile elde edilen genetiği değiştirilmemiş mısır eşitleri ile karşılaştırıldığında alerjik özellikte olmadığı belirtilmiştir (EFSA 2009a). Mısıra karşı olan gıda alerjilerinin frekansı çok düşüktür ve genellikle belirli coğrafyalarda gözlenmektedir. MON 89034 x NK603'n, mısır alımını belirgin şekilde arttırmasını beklemek için herhangi bir sebep bulunmamaktadır Bu nedenle, alerjenik olduğu bilinmeyen herhangi bir endojen proteinin aşırı üretiminin, bitkinin alerjenik özelliği veya tüketicinin alerji riski üzerinde etkisi olmayacağı belirtilmektedir.

Rekombinant proteinler, kaynağı ve yapısına bağlı olarak değişmekle birlikte, genellikle potansiyel alerjenler olarak değerlendirilmektedir. Her yeni yem için ayrı değerlendirme yapılmalıdır. Diğer bir genetik yapısı değiştirilmiş melez mısır eşidi MON 88017 x MON 810 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, 2009a).

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 değişiklikle 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 ve ark. 2004). Genetik yapısı değiştirilmiş bitkilerde modifikasyonlar arttıkça beklenmeyen etkilerin oranı da artmaktadır. Yapılan genetik değişikliğin karmaşıklığı beklenmeyen etkileri teşvik etmektedir (Kleter ve Kok, 2010).

MON 89034 x NK603 çeşidinin tanelerinde asidik, nötral ve toplam deterjan lifleri, amino asitler, yağ asitleri, vitaminler (B1, B2, B6, E, niasin, ve folik asit), mineraller (kalsiyum, bakır, demir, mangan, magnezyum, potasyum, fosfor, sodyum ve çinko), fitik asit, rafinoz ve sekonder metabolitler (furfural, ferulik asit, p-kumarik asit) analiz edilerek bu değerlerin klasik ıslah yöntemleri ile geliştirilmiş mısır çeşitlerinin doğal varyasyon sınırları içerisinde kaldığı belirlenmiştir. Ancak diğer bir genetiği değiştirilmiş melez mısır çeşidi MON 88017 x MON 810 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, 2009b). Bitki genomlarına yeni bir genetik materyal aktarıldığında, aktarılan bölgedeki değişiklik nedeniyle

bitkinin fenotipinde ya da kimyasal yapısında beklenmeyen değişikliklerin oluşabileceği bilinmektedir (Celini ve ark., 2004; Latham ve ark., 2006; Rischer ve Oksman-Caldentey, 2006).

6.6. Çevresel Risk Değerlendirmesi

MON 89034 x NK603 mısır çeşidiyle ilgili başvuru, yalnızca yem amaçlı ithalat için yapılmıştır. Dolayısıyla çevre ve biyoçeşitliliğe ilişkin risk analizleri, taşıma ve yem amaçlı işleme sürecinde istenmeden çeşitli yollarla çevreye yayılma ile sınırlı tutulmuştur. MON 89034 x NK603 melez mısır çeşidinin çevresel risk değerlendirmesi; 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 89034 x NK603 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 epitel 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 giriő işleminin biyokimyasal yapısı tam olarak anlaşılamamıştır. 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* larvaları, Coleoptera takımından *Hippodamia convergens* ve Neuroptera takımından *Chrysoperla carnea* predatörleri, Hymenoptera takımından

Nasonia vitripennis paraziti gibi birçok böcek türünde Cry proteininin önemli bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir (OECD, 2007). Habustova ve ark., (2006) tarafından *B. thuringiensis* var. kurstaki suşunun Cry1Ab proteini içeren MON 810 melez mısır çeşidi ile 3 yıl boyunca Çek Cumhuriyetinde tarla çalışmaları yapılmıştır. Çalışma sonucunda söz konusu genetiği değiştirilmiş mısır çeşidinin bitki üzerinde ve toprakta yaşayan hedef dışı arthropod populasyonları üzerine olumsuz bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir.

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 yapraklarını yiyen larvaların zarar gördüğü belirtilmiştir (Losey ve ark., 1999). Ayrıca, *H. convergens* ve *C. carnea* 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 diğer 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 tarla denemelerine oranla güvenilirliğinin yüksek olduğu bildirilmiştir.

6.7. Genetik Değişiklikten Kaynaklanabilecek Beklenmeyen Etkiler

Gen geçişinin potansiyel kaynakları tohum ve çiçek tozu olarak bilinmektedir. Mısır tohumlarının doğaya istenmeyen taşınmalarının depolama, yem işleme ve nakliye gibi süreçlerde ya da hayvanlar aracılığıyla gerçekleşebileceği düşünülmektedir.

Tarla denemeleri, genetik olarak değiştirilmiş MON 89034 x NK 603 mısır çeşidinin, kontrol çeşidi ile karşılaştırıldığında canlılık, üreme ve yayılma özellikleri bakımından herhangi bir fark göstermediği bulunmuştur

6.7.1. Bitkiden bitkiye gen geçişleri

MON 89034 x NK603 melez mısır çeşidi tarım amaçlı kullanılmayacağından, bitkiden-bitkiye gen geçişleri riski, taşıma ve yem amaçlı işleme esnasında istem dışı çevreye yayılma ile sınırlı tutulmuştur. Bitkiden bitkiye gen geçişlerinin potansiyel kaynaklarının tohum ve çiçek tozu 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, çiçek tozu 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).

Taşıma ve işleme sırasında istem dışı oluşan yabani genetiği değiştirilmiş mısır bitkilerinin polenlerinin diğer mısır bitkilerine kayda değer miktarda dağılması pek mümkün değildir. İspanya'da genetiği değiştirilmiş mısır üzerinde yapılan tarla gözlemleri, bunlarda canlılığın az olduğunu, nadiren koçanları olduğunu ve çevresindeki bitkilere çapraz tozlaşma ile bulaşabilen çok düşük düzeyde polen ürettiklerini göstermiştir.

MON 89034 x NK603 melez mısır çeşidi tarım amaçlı kullanılmayacağından, bitkiden-bitkiye gen geçişi riski, taşıma ve yem amaçlı işleme esnasında istem dışı çevreye yayılma ile sınırlı tutulmuştur. Bitkiden bitkiye gen geçişlerinin potansiyel kaynaklarının tohum ve çiçek tozu olduğu bilinmektedir. Mısır tohumlarının doğaya yayılması hayvanlar aracılığı ile olabileceği gibi, yem işleme ve nakliye süreçleri sırasında da gerçekleşebilir. MON 89034 x NK603 melez mısırı glifosat etkili maddeli herbisitlere ve/veya hedef zararlı böceklere dayanıklılık dışında hayatta kalma,

çoğalma veya yayılma özelliklerini değiştirmemiştir. Bu mısırın genlerinin yayılması sonucunda istenmeyen çevresel etkilerin görülme olasılığının MON 89034 ve NK603 melez mısırı ya da geleneksel mısır türlerinininkinden farklı olmayacağı belirlenmiştir (EFSA, 2009a).

Ancak, sorun sadece yabancı gen kaynakları ile sınırlı değildir. Mısır bitkileri yabancı döllen 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, çiçek tozu aracılığı ile transgenik mısır özellikleri geçtiğinden, ürünün tamamı toplatılarak yok edilmiştir (Bett, 1999).

6.7.2. Bitkiden bakteriye gen geçişi

Transgenik mısır bitkisinin, taşıma ve yem amaçlı işleme esnasında istem dışı, 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 antibiyotiklere dirençlilik ve toksik özellikleri dikkat çekmektedir. Antibiyotiğe dirençli bir çok bakterinin, transgenik gıdalar tüketilmediği zaman da ortaya çıkabildiği bilinmektedir (Salyers, 1997; Smalla ve ark., 1997). Hastanelerde, çevrede ve gıdalarda birden fazla antibiyotiğe dirençli bakterilerin bulunması (Perreten ve ark., 1997), transgenik bitkilerin antibiyotiğe dirençli bakteri geliştirmede yeni bir gen havuzu oluşturmadığını göstermektedir (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 mikrobiyel 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, 2009a). Genetik olarak değiştirilmiş MON 89034 x NK603 mısır çeşidinden üretilen gıda ve yemlerde bulunan transgenlerin, insan ve hayvanların sindirim sistemlerinde bulunan mikroorganizmalarla karşılaşma riski bulunmaktadır. Mikrobiyel kökenleri ve yapıları göz önüne alındığında *cry1A105*, *cry2Ab2* ve CP4 *epsps* genlerinin doğada ve sindirim sisteminde sürekli seleksiyon baskısı yapmaması nedeniyle bakterilere yatay geçiş olasılığının son derece düşük olduğu belirtilmektedir. Transgenin, son derece olağan dışı bir

şekilde aktarılması durumunda bile, insan ve hayvanlara zararlı olması beklenmemektedir (EFSA 2009a).

Ancak, bu verilerin aksini gösteren araştırmalar da bulunmaktadır. Örneğin, genetik yapısı değiştirilmiş organizmalardaki Cry proteininin, topraktaki kil mineralleri tarafından tutularak mikrobiyel 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 değerine, nemine ve mikrobiyel aktivitesine bağlı olarak, birkaç saatle birkaç gün içerisinde toprak bakterilerine 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 çiçek tozu 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 Vries 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 Bilimsel Risk Değerlendirme Komitesi, glifosat'a (CP4 EPSPS) toleranslı ve *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* bakterisinden elde edilen *cry1A.105*, *cry2Ab2* genlerinin aktarılmasıyla hedef böceklere dayanıklı, genetiği değiştirilmiş MON 89034 x NK603 mısır çeşidinin yem amaçlı ithal edilmesinin risklerini değerlendirmiştir.

MON 89034 x NK603 çeşidine biyoteknolojik yöntemlerle aktarılan genlerin yapısı, DNA dizilimi, promotör ve terminatör bölgeleri, ekstra DNA dizileri ve gen aktarım yöntemi ayrıntılı olarak incelenmiştir. Bu çeşitle ilgili başvuru dosyasında yer alan dokümanlar, risk değerlendirmesi yapan çeşitli kuruluşların (EFSA, JRC/CRL-GMFF, WHO, FAO, FDA ve Japonya Çevre Bakanlığı) görüşleri ve bilimsel araştırmaların sonuçlarını içeren makaleler (alerjik ve toksik etki analizleri, genetik modifikasyonun stabilitesi, hedef dışı organizmalara etkisi vb.) ile farklı ülkelerde kullanım durumları göz önünde bulundurulmuştur. Yine bu genetiği değiştirilmiş çeşitle yapılan hayvan besleme çalışmaları incelenerek yalnızca gıda olarak kullanımı sonucu ortaya çıkabilecek riskler değerlendirilmiştir. Ek olarak bu mısır çeşidinin ülkemizde kazayla yayılması durumunda ortaya çıkabilecek biyoçeşitliliği tehdit etmesi olası çevresel riskler göz önünde bulundurulmuştur.

Lepidoptera takımında yer alan bazı zararlı hedef türlere (örn. *Ostrinia nubilalis*, *Helicoverpa zea*) dayanıklılık sağlayacak, Cry1A.105 ve Cry2Ab2 proteinlerini üreten MON 89034 ve glifosat'a tolerans sağlayacak CP4 EPSPS proteinini ifade eden NK603 melezi olan MON 89034 x NK 603 mısır çeşidinin '**yalnızca yem olarak**' tüketiminin uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

8. RİSK YÖNETİMİ

Risk yönetiminin planlanması ve bu planının uygulanması "Risk Değerlendirme Komitesi"nin sorumluluğu dışındadır. MON 89034 x NK 603 mısır çeşidine ait tohumların taşınma ve işlenmesi sırasında istem dışı 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.

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.
- 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.
- 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.
- 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.

- 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.*, 2009;5:706–26.
- 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, 2003a. Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the Notification (Reference CE/ES/00/01) for the placing on the market of herbicide-tolerant genetically modified maize NK603, for import and processing, under Part C of Directive 2001/18/EC from Monsanto (Question No EFSA-Q-2003-003). *The EFSA Journal*, 10, 1-13.
- EFSA, 2003b. Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the safety of foods and food ingredients derived from herbicide-tolerant genetically modified maize NK603, for which a request for placing on the market was submitted under Article 4 of the Novel Food Regulation (EC) No 258/97 by Monsanto (Question No EFSA-Q-2003-002). *EFSA Journal* 9, 1-14.
- EFSA, 2008. Scientific Opinion. Application (Reference EFSA-GMO-NL-2007-37) for the placing on the market of the glyphosate-tolerant genetically modified maize MON 89034, for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Monsanto. *The EFSA Journal*, 909: 1-30.
- EFSA, 2009a. Scientific Opinion of the Panel on Genetically Modified Organisms on an application (Reference EFSA-GMO-UK-2005-21) for the placing on the market of insect-resistant and herbicide-tolerant genetically modified maize 59122 x 1507 x NK603 for food and feed uses, and import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Pioneer Hi-Bred International, Inc. *The EFSA Journal* (2009) 1050, 1-32.
- EFSA, 2009b. 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.
- Jonas, D.A., Elmadfa, I., Engel, K.H., Heller, K.J., Kozianowski, G., König, A., Müller, D., Narbonne, J.F., Wackernagel, W., Kleiner, J., 2001. Safety considerations of DNA in food. *Ann. Nutr. Metab.*, 45: 235–254.
- Habustova, O., F. Turanli, P. Dolezal, V. Ruzicka, L. Spitzer, H. Hussein, 2006. Environmental Impact of Bt Maize-Three Years of Experience. *GMOs in Integrated Plant Protection, Ecological Impacts of Genetically Modified Organisms, IOBC wprs Bulletin/ Bulletin OILB srop*, 29 (5), 57-63.

- 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.
- 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.
- 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.
- 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, 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
- 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., 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.