

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

RAPORUN HAZIRLANIŞ GEREKÇESİ VE DAYANAKLARI:

Bu rapor, genetik olarak değiştirilmiş MON863xMON810xNK603 kodlu mısır çeşidi ve ürünlerinin (MON863xMON810xNK603 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 kanunun uygulanması ile ilgili yönetmelikler, Rio Bildirgesi, Cartagena Biyogüvenlik Protokolü ve ilgili AB direktifleri gibi ulusal ve uluslararası düzenlemeler dikkate alınmıştır.

Rapor hazırlanırken MON863xMON810xNK603 mısır çeşidi ile ilgili ithalatçı firma tarafından dosyada sunulan belgeler, risk değerlendirmesi yapan muhtelif kuruluşların (EFSA, WHO, FAO, FDA, OECD) 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 İktisadi İşletmesi (BESD-BİR)
- Yumurta Üreticileri Merkez Birliği İktisadi İşletmesi (YUM-BİR)

ÇEŞİDİ ÜRETEK KURULUŞ:

Monsanto Company

800 N. Lindbergh Boulevard, St.Louis,

Missouri 63167 USA

ÇEŞİDİN GELİŞTİRİLME AMACI VE ÜRETİMİ:

MON863xMON810xNK603 mısır çeşidi, Monsanto firması tarafından 3 farklı transgenik mısır çeşidinin klasik ıslah yöntemiyle melezlenmesi sonrası elde edilmiştir. Çeşit içinde yer alan MON863 *Bacillus thuringiensis* bakterisinden kın kanatlılardan mısır kök kurtlarına (*Diabrotica* spp.) insektisit özelliğindeki *cry3Bb1*, MON810 *Bacillus thuringiensis* bakterisinden Lepidoptera takımından zararlı mısır kurdu (*Ostrinia nubilalis*) ve mısır koçan kurdu (*Sesamia* spp.) na etkili *cry1Ab*, NK603'den de glifosat herbisitine toleransı sağlayan *CP4 epsps* genlerini taşımaktadır. Adı geçen 3 farklı çeşit mümkün olabilen 3 kombinasyon içinde (MON863xMON810, MON810xNK603, MON863xNK603) şeklinde ikili melezlenmesi sonucu oluşan hatlar(çift melez döller)birbirleriyle melezlenerek MON863xMON810xNK603 mısır çeşidi elde edilmiştir. MON863xMON810xNK603 mısır çeşidini oluşturan ebeveynlerle ilgili veriler her bir çeşit ile ilgili olarak hazırlanan raporlarda ayrıntılı olarak verilmiştir.

RİSK ANALİZİ VE DEĞERLENDİRMESİ:

MON863xMON810xNK603 transgenik mısır çeşidi ve ürünlerine ait bilimsel risk analiz ve değerlendirmesi, bu çeşidin geliştirilmesinde kullanılan gen aktarım yöntemi, aktarılan genin moleküler karakterizasyonu ve ürettiği protein, besin değeri, olası alerjik, toksik etkileri ve çevreye gen 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, FDA) raporları ve bilimsel araştırmaların sonuçları (alerjik ve toksik etki analizleri, genetik değişimin kararlılığı, morfolojik ve agronomik özellikler, hedef dışı organizmalara etkisi vb.) ile farklı ülkelerde üretim ve tüketim durumları göz önünde bulundurulmuştur. MON863xMON810xNK603 mısır çeşidi ile yapılan hayvan besleme çalışmaları da incelenerek bu transgenik çeşidin 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 Karakterizasyon

1.1. Aktarılan genleri taşıyan vektörlerin yapısı ve gen aktarım yöntemi

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

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

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

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

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

1.2. Aktarılan genlerin moleküler yapı, ekspresyonu ve kararlılık analizleri

MON863xMON810xNK603 mısır çeşidi ile yapılan Southern blot analizleri, aktarılan ilgili genlerin tek bir çeşitte toplandığını doğrulamıştır. MON863 çeşidine ait yabancı genin varlığı, *EcoRV* enzim kesimi sonrası yapılan hibritlemede cry3Bb1 probunun kullanımı sonucu 10 kb'lık bir parçanın belirlenmesi ile doğrulanmıştır. MON810 çeşidinden aktarılan yabancı genin varlığı ise *EcoRI* ve *NcoI* kesimi sonrası yapılan hibritlemede cry1Ab probunun kullanımı sonucu 2.8 kb'lık bir parçanın belirlenmesi ile doğrulanmıştır. NK603'ye ait yabancı bölgenin varlığı ise *EcoRV* enzim kesimi sonrası yapılan hibritlemede ctp2-cp4-epsps probu kullanımı sonucu 2.8kb ve 3.8kb'lık parçaların belirlenmesi ile doğrulanmıştır. İlgili özelliklerin varlığının nesillerde korunması ile ilgili yapılan çalışmalar, yabancı genlerin ilgili transgenik mısır çeşidinde kararlı bir şekilde korunduğunu göstermiştir.

MON863xMON810xNK603 mısır çeşidine ait tohumlarda bulunan cry3Bb1, cry1Ab ve cp4 epsps protein seviyeleri immünokimyasal analizler ile belirlenmiş, MON863, MON810 ve NK603 çeşitlerinde bulunan protein seviyeleri ile benzer olduğu bildirilmiştir. (MON863xMON810xNK603 mısır çeşidinde nptII protein miktarının tespit edilebilir seviyede olmadığı belirlenmiştir.) EFSA raporunda ise cry3Bb1, cry1Ab, cp4 epsps ve nptII proteinleri ile ilgili değerlendirmelerin daha önceki çalışmalarda, ilgili çeşitlerde ayrı ayrı yapılmış ve olumlu görüşler belirtilmiştir (EFSA, 2005).

MON863xMON810xNK603 mısır çeşidi üç farklı transgenik mısır çeşidinin klasik olarak hibritlenmesi ile oluşturulmuş ve her çeşide ait olan yabancı gen MON863xMON810xNK603 F1 mısır hibrit tohumlarında gözlenmiştir. Aktarımı yapılan yabancı genler Mendel kurallarına uygun olarak, tek dominant gen olarak aktarılmıştır ve bu Southern blot analizi ile doğrulanmıştır (CERA,2011). MON863xMON810xNK603 çeşidinde ve ebeveyn mısırlardaki (MON863, MON810 ve NK 603) proteinlerin ifade düzeyleri (cry3Bb1, cry1Ab, cp4 epsps ve nptII) tarla denemeleri yapılarak elde edilen tanelerde araştırılmış nptII dışında diğer proteinlerin düzeyinin değişmeden kaldığı ancak nptII nin MON863xMON810xNK603 ve MON863 de tesbit edilemeyecek düzeyde olduğu bildirilmiştir (EFSA, 2005).

2. Kimyasal Bileşim ve Tarımsal Özelliklerin Risk Analizi

2.1. Kimyasal bileşim analizi

MON863

Tarla denemelerinde elde edilen MON 863 mısır, transgenik olmayan mısır (MON 846) ve ticari mısır melezlerinin tane ve hasılında kimyasal analizler gerçekleştirilmiştir. Karşılaştırmalarda, MON 863 mısır ve kontrolü arasında palmitik asit düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir. Ancak bu farklılık, doğal biyolojik değişim sınırları içinde kalmıştır (EFSA, 2004a; George ve ark., 2004).

MON810

MON810 mısırın yapılan tarla denemeleri sonucu elde edilen mısır tanelerinde besin madde analizlerinden 8 amino asit, ham selüloz, kalsiyum ve β -tokoferol seviyeleri kontrol mısıra (MON818) göre MON810 mısırdaki anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Ancak, bazı bileşenlerin konsantrasyonları MON810 mısır ve kontrol mısır hattı için, literatürde bildirilen aralıklar içinde bulunurken, histidin ve sistin düzeyi (MON810 mısır ve kontrolü) literatürde bildirilenlere göre daha yüksek, kalsiyum düzeyleri ise literatürde rapor edilen seviyelerin altında saptanmıştır (EFSA, 2009).

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

NK603

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

MON863xMON810xNK603

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

MON863xMON810xNK603 mısır ve kontrolünden elde edilen tanelerin kimyasal bileşimleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlenmiştir. Ancak bu farklılıklar, tutarlı bulunmamıştır. Tutarlı farklılıklar sadece oleik asit, linoleik asit ve niasin içeriğinde gözlenmiştir. Örneğin, oleik asit düzeyleri kontrol mısır tanelerinde toplam yağ asitlerinin %29,48 iken, MON863xMON810xNK603 mısırdaki %31,73 'e yükselmiştir. Bu değerlerin ticari mısır çeşitleri için elde edilen (%22,02-35,24) aralıklar içinde olduğu görülmektedir. Linoleik asit değerleri kontrol mısırdaki %53,06 iken, MON863xMON810xNK603 mısırdaki %50,63 'e düşmüştür. Ticari mısır çeşitlerindeki linoleik asit aralığı içinde (% 48,77-62,71) yer aldığı gözlenmiştir. Niasin düzeyleri, kontrol mısırdaki 20,81 mg/kg KM, bulunurken, MON863xMON810xNK603 mısırdaki 18,13 mg/kg KM'ye azaldığı bulunmuştur. Bu değerlerin ticari mısır çeşitlerinden elde edilen (18,23 –31,02 mg/kg, KM), önceki saha denemelerinden elde edilen (14,1 - 36,3 mg/kg KM) ve literatürde bildirilen (9,3 - 70 mg/kg KM) aralıklar içinde olduğu gözlenmektedir. Buna ek olarak, Dunlap ve ark, (1995) tarafından da mısır tanelerindeki yağ asidi kompozisyonunun, mısır çeşitleri arasında, özellikle genetik faktörler nedeniyle önemli ölçüde değişebileceği bildirilmektedir. Bu nedenle MON863xMON810xNK603 mısırdaki bu küçük analiz farklarının biyolojik açıdan anlamlı olmadığı bildirilmiştir (EFSA, 2005).

2.2.Tarımsal özelliklerin analizi

Genetiği değiştirilmiş (GD) ve genetiği değiştirilmemiş mısır çeşitleri arasındaki farkları, tüm özellikler bakımından ortaya koyabilmek için son yıllarda çok sayıda araştırma yapılmıştır. GD mısır çeşitleri biyoteknolojik yöntemlerle elde edildiği için, bu yeni çeşitlerde sadece amaca, yani hastalığa/ böceklere/ yabancı otlara dayanıklılık bakımından değişiklik meydana gelmektedir. Dolayısıyla yapılan araştırmaların sonucu; önemli tarımsal özellikler (tohum ve çiçek morfolojisi, bitki boyu, vejetasyon süresi vb.) bakımından böceklere ve herbisitlere dayanıklılık geni aktarılmış olan MON863xMON810xNK603 ile geleneksel hibrit mısır çeşitleri arasında bilinen tarımsal ve biyolojik karakterler ile yabancı ot rekabeti bakımından farklılığın olduğuna dair kesin bir bulgu rapor edilmemiştir (EFSA, 2007).

3. Çevresel Risk Değerlendirmesi

Ülkemizde GD bitkilerin yetiştirilmesi kanunen yasak olduğundan çevresel risk değerlendirmeleri; MON863xMON810xNK603 mısır çeşidinin kullanımı dikkate alınarak hayvan yemi şeklinde tüketimi sonrası sindirim sisteminden başlayıp dışkı ve gübre şeklinde indirekt şekilde maruz kalma, GD ürününü taşıma, depolama ve işleme esnasında kazayla çevreye yayılma riskleri ile sınırlı tutulmuştur.

3.1. Genetik değişiklikten kaynaklanabilecek yayılma potansiyeli

Doğada bulunan bitkiler arasında en yüksek enerji stoğuna sahip olan mısır bitkisi Dünya'da 159 milyon hektar alanda ekilmekte ve yaklaşık 817 milyon ton tane üretimi yapılmaktadır. Ülkemizde 2009 yılı verilerine göre 592 bin hektar ekim alanında yaklaşık 4.2 milyon ton tane üretilmiştir . Dünya ortalaması olarak, üretilen mısırın yaklaşık %27'si insan beslenmesinde, %73'ü hayvan beslenmesinde kullanılmaktadır (FAO, 2009).

Mısır, yazlık bir sıcak iklim bitkisi olup, Türkiye koşullarında kışın tarımının yapılma şansı yoktur (Kırtok, 1998; OECD, 2003). Koçan üzerinden dökülen mısır tanelerinin toprağa karışarak kış koşullarını atlatıp, ilkbaharda çimlenip neslini devam ettirme şansı da bulunmamaktadır. Koçan üzerinden dökülen mısır tanelerinin de hayatta kalması çok zordur ve uzun yıllar Türkiye'de yetiştirilmesine rağmen kültüre alınan alanlar dışında kendiliğinden gelişen mısır bitkisine rastlanmamaktadır. Ayrıca mısırın Türkiye'de tozlaşma potansiyeline sahip yabancı türleri bulunmamaktadır. GD mısır kültüre alınmadığı için de yerli çeşitlere polen akışı riski çok az görölmektedir.

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 MON863xMON810XNK603 mısır çeşidi kültüre alınmasa da kontrol edilemeyen faktörler sebebiyle yerli çeşitlere ve lokal popülasyonlara polen kaçıışı riskini çok az da olsa potansiyel olarak taşımaktadır. Ülkemizde GD bitkilerin yetiştirilmesi kanunen yasak olduğundan çevresel risk değerlendirmeleri; MON863xMON810XNK603'in kullanımı dikkate alınarak hayvan yemi olarak tüketimi sonrası sindirim sisteminden başlayıp dışkı ve gübre şeklinde çevreye bırakılması şeklinde ve GD ürününün taşınması ve işlenmesi esnasında kazayla çevreye yayılma riskleri ile sınırlı tutulmuştur.

3.2. Gen transfer potansiyeli

Herhangi bir genin transfer olabilmesi; DNA'nın doğrudan horizontal transferi veya ilgili geni taşıyan tohumlardan oluşan bitkilerin tozlaşması ile vertikal gen transferi ile mümkün olmaktadır.

3.3. Bitkiden bitkiye gen transferi

Mısır yabancı döllenen 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. Türkiyede GD mısırdan gen kaçıışı olasılığını sınırlandıran faktörler:

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

Mısır, uygun koşullarda tarımsal ekosistem içerisinde canlılığını sürdürebilen bir bitkidir. İthal talep edilen MON863xMON810xNK603 mısır çeşidi sadece yem amaçlı olarak

kullanılacaktır. Bununla birlikte kontrol edilemeyen faktörler (kaza, dikkatsizlik, kasıt vb.) ile çok az da olsa çevreye yayılma olasılığı vardır.

GD mısır kültürüne alındığında belirli böceklerle ve herbisitlere karşı dayanıklılık geni içermesi, herbisit ve insektisit kullanılması sonucu yabancı otlarla ve böceklerle mücadele açısından mısır yetiştiriciliğinde önemli bir avantaj sağlamaktadır. Ancak GD mısır, herbisite ve böceklerle dayanıklılık geni dışında hastalıklara dayanıklılık, diğer kültür bitkileri ile rekabette üstünlük, ekstrem koşullarda yaşamını sürdürme, dormansiye sahip olmama gibi özellikler bakımından geleneksel mısır çeşitlerine göre bir farklılık içermemektedir. Bu durumda da mısır üretim alanları dışındaki farklı ekolojilerde kendiliğinden yetişerek, yaşamını sürdürme şansı bulunmamaktadır. Ayrıca tarla denemeleri MON863xMON810xNK603 mısır çeşidinin geleneksel mısır çeşidine göre aşırı bir yayılma, farklı bir gelişme ya da doğaya uyum sağlama özelliğinin bulunmadığını göstermiştir. Ayrıca mevcut literatür incelendiğinde söz konusu çeşitin doğada kalabilme, kışı geçirebilme gibi farklı bir özellik taşımasına yönelik herhangi bir bulguya da rastlanmamıştır.

3.5. Bitkiden bakteriye gen transferi

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

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

MON863 mısır hattı ise neomisin fosfotransferaz II enzimini kodlayan tam bir *nptII* genini taşımaktadır. Bu gen MON863 çeşidinin oluşturulması sırasında seçici markör olarak kullanılmıştır. Bu MON863xMON810xNK603 mısır çeşidinde de mevcuttur. Yapılan incelemeler (EFSA, 2004c) *nptII* seleksiyon markörünün kullanımının çevre, insan ve hayvan sağlığı açısından bir risk oluşturmayacağını göstermektedir. Bu sonuç Avrupada insan ve hayvan hekimliğinde neomycin ve kanamycin'in sınırlı olarak kullanılması, bakteri popülasyonlarında bu genin yaygın olarak bulunduğu ve farklı alemlerde yer alan bitkiden bakteriye yatay gen transferinin (Bennett et al., 2004) çok düşük bir risk oluşturduğu temeline dayanmaktadır.

nptII geni geçmişte emniyetle kullanımı kanıtlanmış ve iyi bir 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).

3.6. Hedef olmayan organizmalar ile etkileşim potansiyeli

Cry proteinlerinin çevreye dağılarak toprakta varlığı dikkate alındığında humik asit, kil ve organik madde-mineral kompleksine bağlanması sonucu bozunmadan kalabileceği düşünülebilir (OECD, 2007). Ancak bu konuda yapılan bir kaç çalışma topraktaki GD bitkilerde bulunan Cry proteinlerinin toprakta kalıcı olmadığı gibi herhangi bir birikimin de söz konusu olmayacağını göstermektedir (Ahmad ve ark., 2005; Baumgarte ve Tebbe, 2005; Dubelman ve ark., 2005; Head ve ark., 2002; Herman ve ark., 2001; 2002; Hopkins ve Gregorich, 2005; Krogh ve Griffiths, 2007).

Sonuç olarak MON863xMON810xNK603 mısır çeşidindeki Cry toksinlerinin çevrede mısır tanelerinin kazara dökülmesi veya hayvan dışkılarının çevreye dağılması sonrası suya veya toprağa karışan miktarın çok düşük olacağı ve lokal olarak kalacağı belirtilmektedir. Bu koşullar altında potansiyel olarak duyarlı olan hedef dışı organizmaların bu proteinlere maruz kalma olasılığı düşüktür .

4.Yem Güvenliğinin Değerlendirilmesi

4.1. İşlemenin etkisi

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

4.2.Toksikolojik değerlendirmeler

MON863

EFSA (2005) panel raporunda yer alan veri ve değerlendirmelere göre MON863 çeşiti ile yapılan 90 günlük subkronik sıçan besleme çalışmasında söz konusu mısırın tüketilmesiyle ilgili ters bir etki oluşturmadığı bildirilmiştir. Panel raporunda, cry3Bb1 proteinin indirekt olarak düşük olasılıkla alerjik etkisi yaratabilmesi ya da tüm bitkinin alerjik etkisi dışında doğrudan alerjik bir risk yaratmayacağı belirtilmiştir. Aynı raporda MON863 mısırının etlik piliçler ile yapılan besleme çalışmalarında da olumsuz bir etkiye neden olmadığını ifade edilmiştir. Ayrıca MON863 mısırın besleyici özelliklerinin, geleneksel olarak yetiştirilen mısırın besleyici özelliklerinden farklı olmadığı rapor edilmiştir (EFSA, 2004 a, b). Vendemois 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 laboratuvar ve 2 farklı tarihte yapılan bu çalışmada yaklaşık 4-6 haftalık erkek ve dişi Sprague-Dawley ırkı sıçanlar kullanılmıştır. Her grupta 20 erkek ve 20 dişi tutulmuş, ancak her grupta 10 sıçandan kan ve idrar örnekleri alınmıştır. Çalışma OECD rehberi ve standartları kullanılarak yürütülmüştür. Her tip genetiği değiştirilmiş mısır için yalnız 2 besleme kürü kullanılmıştır (%33 veya %11 oranında genetiği değiştirilmiş mısır içeren bir yem). Kontrol için de 2 farklı kontrol grubu tutulmuştur (aynı miktarda en yakın özellikte veya ana hat mısır içeren yemler). Diğer 6 gruba 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 dişilerde kreatinin düzeyi, kandaki üre azotu ve idrarda klor atılımının arttığı, ama erkeklerin böbrek fonksiyonlarında (kreatinin, ve idrarda sodyum, potasyum ve fosfor) daha fazla varyasyonlar bulunduğu kaydedilmiştir. MON863 yedirilen erkek sıçanlarda dikkat çeken kronik bir nefropatiyle böbrek ağırlıkları %7 oranında düşmüş, vücut ağırlıkları ise %3.3 oranında azalmıştır. Bunun yanı sıra erkeklerde albumin, globulin ve alanin aminotransferaz gibi bazı karaciğer parametrelerinde de farklılıklar olduğu belirtilmiştir. Sonuçta MON863 yedirilen sıçanlarda plazma kreatinin düzeyi ile kronik hücreler arası 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 sığınmaması gerektiği belirtilmiştir. Zira deneyin sonunda sıçanlar hala 5 ay gibi genç sayılacak bir yaşta olduklarından bu değerlendirmelerin 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.

NK603

Genetik olarak değiştirilmiş olan NK603 mısırı değişim farklı promotörler ile *cp4 epsps* geninin birbirinden sadece bir amino asit farklılığı olan 2 değişik *cp4epsps* proteinini oluşturmaktadır. Yapılan bioinformatik analizler ve deneysel hayvanlarla yapılan besleme denemeleri bu küçük değişikliğin protein yapısında, toksisitesinde ve alerjenitesinde bir değişiklik oluşturmadığını göstermiştir (EFSA, 2005). Ayrıca EFSA panel raporunda 90 günlük subkronik sıçan besleme çalışmalarını da içeren hayvan besleme çalışmaları sonrası, NK603'ün genetiği değiştirilmemiş eşdeğeri kadar güvenli olduğunu bildirmiştir. ABD ve Avrupa'daki tarla çalışmalardan alınan tohumları analiz de NK603'ün genetiği değiştirilmemiş benzerleriyle aynı bileşime sahip olduğunu göstermiştir (EFSA, 2003a, b).

Vendomois ve ark. (2009) tarafından yapılan bir çalışmada dünyada hem gıda hem de 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 laboratuvarında 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.

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

MON810

Cry1Ab proteinin akut toksisitesinin olmadığı ve MON810 mısırın tüketimine yönelik 90 günlük subkronik sıçan besleme çalışmaları sonrası olumsuz bir etki yaratmadığı belirtilmiştir (EFSA, 2005). EFSA paneline sunulmuş olan bu raporda yürütülmüş olan toksikolojik çalışmanın iyi planlandığı ve istatistik olarak uygun şekilde dizayn edildiği sonucuna varılarak MON810 daki bu değişikliğin herhangi bir alerjenite oluşturmadığı ve olumsuz bir etki yaratmadığı sonucuna varılmıştır.

MON810 ile ilgili etlik piliç besleme çalışmalarında da olumsuz bir etki görülmemiş olup değerlendirme sonrası MON810 mısır çeşitinin beslenme özellikleri açısından genetiği değiştirilmemiş eşdeğerinden farklı olmadığı ifade edilmiştir (SCP, 1998b, EFSA 2004a, b).

Walsh ve ark (2011), MON810 mısır içeren yemle domuzlarda yaptıkları 31 günlük besleme sonucunda bazı önemli sonuçlar elde etmişlerdir. Çalışmada toplam 32 adet sütten kesilmiş 28 günlük yaşta erkek domuz kullanıldığı, domuzların rastgele 2 gruba ayrıldığı, bir gruba genetiği değiştirilmemiş mısır (Pioneer PR34N43), diğer gruba genetiği değiştirilmiş mısır (Pioneer PR34N44'ten elde edilen MON810) içeren yemlerin verildiği, pelet şeklinde hazırlanan yemlerin içeriğinin ve kimyasal yapısının aynı olmasına dikkat edildiği (her rasyondaki mısır içeriği %38.88 oranında), belirlenen tüm mikotoksinlerin oranının Avrupa Birliği mevzuatında belirtilen maksimum kabul edilebilir düzeylerin altında bulunduğu, pestisit kalıntıları yönünden ise yemlerin temiz olduğu belirtilmiştir. Yaptıkları analizlerde genetiği

değiştirilmiş mısır içeren rasyonun nişasta, suda çözünen karbonhidrat, asit deterjan lif (ADF) ve sukroz içeriğinin genetiği değiştirilmemiş mısır içeren rasyondan sırasıyla %2,2; %1.03, %0.55 ve %1 oranında daha fazla, enzime dirençli nişasta içeriğinin ise %2.35 oranında daha az bulunduğunu bildirmişlerdir. Nötral deterjan lif (NDF), asit deterjan lignin, sindirilebilir enerji, kimyasal kompozisyon ve amino asit konsantrasyonu yönünden ise her 2 rasyonun benzer olduğu ifade edilmiştir. Hayvan refahına uygun olarak barındırılan domuzların çevresel değişikliklerden uzak tutuldukları, 0, 7, 14, 21, 28 ve 31. günlerde bireysel vücut ağırlıkları ve yem tüketimi yönünden kayıtlarının tutulduğu ve 31. gün uygun bir şekilde ötanazi edildikleri, ayrıca son yemin ötanaziden 3 saat önce verildiği kaydedilmiştir. Domuzlarla yapılan çalışmanın 14. gününe kadar domuzlar arasında yem tüketimi, ortalama canlı ağırlık kazancı ve yemden yararlanma oranında bir değişiklik kaydedilmediği belirtilmiştir. Ancak 14-30. günler arasında MON810 mısırla beslenen domuzların daha fazla yem tükettikleri ve buna karşılık yemden yararlanma oranının daha düşük olduğu belirtilmiştir. Ayrıca MON810 mısırla beslenen domuzların günlük olarak (0-30. gün ortalaması) daha fazla yem tükettikleri ve istatistiksel olarak önemli olmasa bile günlük olarak daha fazla canlı ağırlık kazandıkları bildirilmiştir.

Domuzlarda MON810 mısır içeren yemle yapılan bazı besleme çalışmalarında yem tüketimi ve ortalama günlük ağırlık kazancı arasında GD mısırla GD olmayan mısır arasında bir fark görülmemesine rağmen bazı araştırmalar Walsh ve ark (2011)'nin buldukları sonucu destekler niteliktedir. Custodio ve ark (2006) Bt11 mısır tüketen domuzlarda (baştan sona, yani 17 kg canlı ağırlıktan 120 kg canlı ağırlığa varana kadar sürekli tüketenlerde) ortalama günlük yem tüketiminde artış belirlerken 60 kg'dan sonra yapılan beslemede (120 kg olana kadar) bu değişikliğin olmadığını belirtmişlerdir. Yine benzer bir çalışmada MON810 mısır tüketen domuzların ortalama canlı ağırlık kazancında artış olduğu bildirilmiştir (Piva ve ark., 2001). Ancak açıklanan son 2 araştırmada bunun nedeninin GD mısırlardaki daha düşük fumonisin B varlığına bağlanmıştır. Aynı şekilde zebra balıklarında yapılan çalışmada elde edilen daha yüksek ağırlık kazancı da MON810 mısırdaki daha düşük mikotoksin varlığına bağlanmıştır (Sissener ve ark. 2010). Halbuki Walsh ve ark (2011)'nin yaptıkları çalışmada MON810 mısır tüketimini takiben domuzların yem tüketimi, canlı ağırlıkları ve büyüme oranlarında artış olmasına rağmen, yemlerde yapılan analizlerde mikotoksin düzeyinin AB mevzuatının kabul edilebilir sınırının altında belirlendiği ileri sürülmüştür. Dolayısıyla diğer araştırmacıların canlı ağırlıktaki ve yem tüketimindeki artışı mikotoksin seviyelerinin düşüklüğüyle açıklamaları bu çalışmayla geçerliliğini yitirmektedir. Walsh ve ark (2011)'na göre bu fark GD mısırdaki sindirim enzimine dirençli nişastanın GD olmayan mısırdaki bulunan nişastadan daha az olmasına bağlanmıştır. Çünkü Willis ve ark. (2009) yaptıkları bir çalışmada bütün lif çeşitlerinin tokluğa eşit bir şekilde etki etmediğini ve tokluğa en fazla etki edenin dirençli nişasta olduğunu bildirmişlerdir. Walsh ve ark (2011)'na göre GD mısırla beslenen domuzların daha fazla yem tüketmelerinin nedeni olarak bu duruma işaret edilmiştir.

Walsh ve ark. (2011)'nin yaptıkları besleme çalışmasında domuzların kalp, karaciğer ve dalak ağırlıklarında gruplar arasında önemli bir fark tespit edilmemiştir. Ancak MON810 mısır tüketen domuzların böbrek ağırlıklarında önemli bir artış olduğu belirlenmiştir. Bu da olası bir böbrek toksisitesinin belirtisi olabilir. Bununla beraber gerek böbrek ve gerekse muayene edilen diğer organlarda herhangi bir histopatolojik değişiklik görülmemesi, ayrıca kanda yapılan biyokimyasal analizlerde böbrek ve karaciğer fonksiyonlarının etkilenmemesi bu durumu şüphede bırakmıştır. Bunun yanında Seralini ve ark (2007) ile yine aynı araştırmacı grubu olan Vendomois ve ark. (2009)'dan başka bu çalışmayı destekleyen bir kaynak bulunamamıştır. Walsh ve ark (2011) böbreklere yönelik toksisiteden söz edilebilmesi için plazma üre konsantrasyonunun artması gerektiğini halbuki plazmadaki üre konsantrasyonunun değişmediğini belirtmişlerdir. Ancak aynı araştırmacılar daha uzun süreli besleme çalışmalarında, GD mısırla beslenen domuzların 30 günden sonra serum üre konsantrasyonlarının arttığına dair bulgulara sahip olduklarını makalelerinde beyan etmişlerdir.

Seralini ve ark. (2007)'nin yaptıkları ve GD mısır tüketen sıçanlarda buldukları hepatorenal toksisite belirtileri MON863 mısırla yapılmış olduğundan burada irdelenmemiştir. Ancak Vendomois ve ark. (2009) tarafından yapılan çalışmada 3 ana ticari genetiği değiştirilmiş mısır (NK 603, MON810 ve MON863), sıçanlara 90 gün boyunca yedirildikten sonra elde edilen sonuçlar daha bir çarpıcıdır. 2 farklı laboratuvarında ve 2 farklı tarihte yapıldığı, OECD rehberi ve standartları kullanılarak yürütüldüğü ifade edilen bu çalışmada yaklaşık 4-6 haftalık erkek ve dişi Sprague-Dawley ırkı sıçanların kullanıldığı, her grupta 20 erkek ve 20 dişi tutulduğu, ancak her grupta sadece 10 sıçandan kan ve idrar örnekleri alındığı belirtilmiştir. Çalışmanın sonuçları cinsiyete ve genellikle doza bağlı bir şekilde test edilen 3 GD mısır çeşidinin tüketiminin yan etkilere neden olabileceğini açıkça göstermektedir. Bu 3 GD mısır çeşidi arasında farklılık olmasına rağmen etkilerin çoğunluğunun böbrek ve karaciğer ile besinleri detoksifiye eden organlarla ilgili olduğu ifade edilmiştir. Ayrıca kalp, adrenal bez, dalak ve hematopoietik sistemle ilgili etkilere de dikkat çekilmiştir. Yazarlar bu verilerin hepatorenal toksisite belirtilerine vurgu yaptığı sonucuna varmışlardır. Ayrıca, genetik modifikasyonun istenmeyen direkt veya dolaylı sonuçlarının da göz ardı edilmemesi gerektiğini ifade etmişlerdir.

MON810 mısırın olumsuz etkilerinin bulunduğu başka bir çalışmada Sagstad ve ark. (2007) somon balıklarının (*Salmo salar* L.) yemlerine nişasta kaynağı olarak düşük veya yüksek oranda katılan MON810 mısırları hem izojenik yünden ona yakın GD olmayan mısırla hem de başka cinsten GD olmayan referans bir mısır çeşidi ile karşılaştırmışlardır. Herhangi bir yanlışığa yol açılmaması için çalışmada kullanılan GD mısır ile GD olmayan mısır çeşitlerinin Monsanto firmasından, referans mısırın (Suprex mısır) ise Hollanda'dan temin edildiği belirtilmiştir. Rasyonların aşağıda belirtildiği gibi 5 farklı şekilde Norveç Balıkçılık ve Su Kültürü Enstitüsünde hazırlandığı kaydedilmiştir;

- 1) Nişasta kaynağı olarak yalnız suprex mısırın kullanıldığı Referans rasyon,
- 2) Düşük miktarda genetiği değiştirilmemiş mısır (150 g/kg) içeren rasyon,
- 3) Yüksek miktarda genetiği değiştirilmemiş mısır (300 g/kg) içeren rasyon,
- 4) Düşük miktarda genetiği değiştirilmiş mısır (150 g/kg) içeren rasyon,
- 5) Yüksek miktarda genetiği değiştirilmiş mısır (300 g/kg) içeren rasyon,

Yapılan analizler neticesinde rasyonların protein, yağ, nişasta, yağ asitleri, amino asitler, vitamin ve mineral içerikleri yönünden eşdeğerde oldukları ve rastgele 5 gruba ayrılan balıklara 82 gün boyunca bu şekilde verildikleri belirtilmiştir.

Sagstad ve ark. (2007) balıklarda yaptıkları denemelerin sonunda katalaz (CAT) enzim aktivitesini diğer gruplarla karşılaştırıldığında, GD mısır (hem düşük hem yüksek miktar grubunda) tüketen balıkların karaciğerinde düşük, bağırsaklarda ise daha yüksek bulduklarını belirtmişlerdir. GD mısır tüketen balıkların hem karaciğer hem de bağırsaklarındaki superoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesi ile karaciğerdeki HSP70 (heat shock protein 70) protein düzeyinin diğer gruplarla karşılaştırıldığında daha yüksek bulunduğunu ifade etmişlerdir. Bağırsaklardaki HSP70 düzeyinin Western blot ile belirlenemediği belirtilmiştir.

Sagstad ve ark. (2007) tarafından yapılan bu çalışmanın sonunda karaciğer SOD etkinliğinde artış ve CAT etkinliğindeki düşme yalnızca GD mısır tüketen balıklarda görülmüştür. Bunun nedeni GD mısırdaki bulunan bazı öğelerin karaciğer hücrelerinin antioksidan sistemlerine yönelik sekonder etkiden kaynaklanabileceği sonucuna varılmıştır. SOD enzimleri ise bir grup metalloenzimdir ve serbest superoksit anyonlarının hidrojen peroksit ve O₂'ye dönüşümünü katalize ederek reaktif oksijenlerin düzeyini azaltır. Hidrojen peroksit daha sonra CAT enzimi tarafından O₂ ve suya detoksifiye edilir. Yapılan çalışmada GD mısır tüketen grupların daha az yem tükettikleri tespit edilmiştir. Bunun CAT enziminin düşüklüğüyle ilgili olabileceği düşünülse de bütün balıkların iştahının ve gelişmesinin iyi olması nedeniyle üzerinde durulmamıştır. Çalışmada yüksek miktarda GD olmayan mısır tüketen balıklarla yüksek miktarda GD mısır tüketen balıkların akyuvar düzeyleri karşılaştırıldığında, GD mısır tüketen balıkların granulosit düzeyinde artış, lenfosit düzeyinde azalma, toplam granulosit+ monosit düzeyinde artış görülmüş, monosit düzeyindeki artışın

ise önemli olmadığı belirlenmiştir. Bu durumun GD mısırın karaciğer metabolizması üzerine olan sekonder etkilerinin güçlü bir göstergesi olduğu belirtilmiştir. Ayrıca karaciğerdeki HSP70 protein düzeyinin GD mısır tüketen balıklarda daha yüksek çıkması da bu durumu desteklemiştir. Çünkü HSP70, çeşitli stres faktörlerine yanıt olarak oluşan koruyucu bir proteindir. Sagstad ve ark. (2007) GD mısırla beslenen balıkların bağırsaklarındaki SOD ve CAT enziminin artışı, MON810 mısırdaki delta endotoksinin varlığına bağlamışlardır. Başka çalışmaların sonuçlarıyla destekledikleri iddialarında sindirim kanalının yabancı DNA ve proteinlerle ilk temas yeri ve giriş yolu olması nedeniyle olası stres yanıtlarının ilk burada görüleceğini ifade etmişlerdir. Böylece sonuçların orta düzeyde streslere yanıtın bir göstergesi olduğu kanısına varılmıştır.

GD mısırın immün sisteme yönelik olumsuz etkilerini ortaya koyan başka bir çalışma Finamore ve ark. (2008) tarafından yapılmıştır. Finamore ve ark. (2008), MON810 mısır tüketen korunmasız (yeni süttten kesilen 21 günlük ve 18-19 aylık yaşlı) farelere (erkek Balb/c) karşı bağırsak ve çevresel immün yanıtları değerlendirmişlerdir. MON810 mısır veya onun ana hattı GD olmayan mısır içeren (%50 oranında) yemlerin süttten kesilmiş farelere 30 ve 90 gün verildiği, yaşlı farelere ise sadece 30 gün verildiği belirtilmiştir. Deneyin sonunda gruplar arasında ortalama canlı ağırlık ve yem tüketimi açısından, ayrıca dalaktaki lenfositlerin proliferasyonunda farklılık görülmediği bildirilmiştir. Ancak kontrol grubuyla karşılaştırıldığında MON810 mısırla beslenen farelerin bağırsak ve çevresel kısımlarında T ve B hücreleri ile bazı diğer hücrelerin oranında farklılıklar bulunduğu, ayrıca serum sitokin düzeylerinin de arttığı belirtilmiştir. Bu değişimlerin en çok, GD mısırla 30 gün beslenen süttten kesilmiş farelerde bulunduğu, 90 gün beslenenlerde yalnızca B hücrelerinin artış gösterdiği kaydedilmiştir. Yaşlı farelerde görülen değişikliklerin ise 30 gün beslenen farelerde görülen değişikliklerle aynı olduğu saptanmıştır. Finamore ve ark. (2008), bu sonuçların çok genç ve yaşlı farelerin immunolojik bozulmaya daha duyarlı olduğunu gösterdiğini, farelerin 111 günlük olana kadar (90 günlük besleme+21 günlük yaş) kazandıkları dirençle birlikte bozukluğun azaldığını ifade etmişlerdir. Elde edilen değişikliklerin bağışıklık sisteminin önemli bir şekilde bozulduğuna kanıt olması için daha ileri araştırmaların yapılması gerekir. Ancak bu veriler genetiği değiştirilmiş ürünlerin güvenlik değerlendirmelerinde yaşın olduğu kadar tüm bitkinin bağırsak ve çevresel bağışıklık yanıtının değerlendirilmesinin önemine dikkat çekmektedir.

Bt mısır ile yapılan ve bazı olumsuz sonuçlara varılan 3 nesil besleme çalışması ise Kılıç ve Akay (2008) tarafından yapılmıştır. Kılıç ve Akay (2008) tarafından yapılan çalışmada Bt mısırla beslenen sıçanların üçüncü nesil yavrularında histopatolojik incelemeler için mide, duodenum, karaciğer ve böbrekler alınmış, glomerul çapı, böbrek korteksinin kalınlığı ve glomerüler hacim belirlenmiş, serum örneklerinde üre, üre-nitrojen, kreatinin, ürik asit, total protein, albumin ve globulin miktarı belirlenmiş, aspartat aminotransferaz, alanin aminotransferaz, alkalın fosfataz, gamma glutamiltransferaz, kreatin kinaz ve amilazın enzim etkinliği ölçülmüştür. Bulgulara göre GD mısırla beslenen ve beslenmeyen sıçanlar arasında yapılan karşılaştırmada organ ağırlıklarında önemli bir farklılık görülmemiş, ancak karaciğer ve böbreklerde bazı histopatolojik bulgular elde edilmiştir. Ayrıca kreatinin, total protein ve globulin düzeylerinde de değişiklikler tespit edilmiştir. Çalışmada bütün gruplarda yavru ölümleri görülmesine rağmen Bt mısır içeren yemleri tüketen grupta yavru ölümlerinin daha fazla olduğu tespit edilmiştir. GD mısır ile beslenen sıçanların sindirim kanalı, karaciğer ve böbrek dokularında histopatolojik açıdan çok önemli değişikliklere rastlanmamış, ancak kısa süreli besleme çalışmaları ile kıyaslandığında karaciğer ve böbrek dokularında ve serum enzim seviyelerinde bazı farklılıklar tespit edildiği bildirilmiştir. Vücudun biyotransformasyon ve detoksifikasyonundan sorumlu organı olan karaciğerde görülen değişikliklerin burada gerçekleşen metabolik olayların özelliğine bağlı olduğu belirtilmiştir. Bt mısır tüketen sıçanların hepatositlerinde görülen granüler dejenerasyonlar, sitoplazmik organellerdeki deformasyonları ve hücre içi sıvı birikimindeki artışı göstermektedir. Çekirdek zarında tespit edilen düzensizliğin metabolik olaylar, çekirdek-metabolizma arasındaki moleküllerin geçişindeki değişiklik ve çekirdek işlevlerinin artışı nedeniyle olabileceğine dikkat çekilmiştir. Aynı çalışmada proksimal tübül hücrelerinin mikrovilluslarında yer yer bozulmalara da

rastlanmış, ancak bunun yaygın olarak görülmediği belirtilmiştir. Bozulmuş hücrelerin tübül lümenine atılmasıyla dokuda yenilenmenin başladığı tespit edildiği bildirilmiştir. Ayrıca tüm gruplarda görülmekle birlikte Bt grubuna ait böbreklerde daha sık karşılaşılan bir başka durum ise dokudaki kanamaya bağlı olarak tübüller arasında oluşan boşlukların görüldüğü ifade edilmiştir. Bunun pek çok nedeni olabileceği göz önünde bulundurulsa da Bt mısır tüketen grupta daha fazla gözlenmesi dikkat çekmektedir. Seralini (2005) de % 33 oranında MON 863 Bt mısır ile 90 gün beslenen erkek sıçanların böbrek ağırlığında azalma, tübüllerde değişiklikler, inflamasyon, yenilenme bozuklukları ve dişilerde kan şekerinde yükselme gözlemiştir. Kılıç ve Akay (2008)'ın çalışmasında inflamasyon gözlenmediği, tübüllerde dejenerasyon başlangıcı, glomerulus hacminde ve çapında ise azalma olduğu bildirilmiştir. Glomerulus hacmindeki azalmanın iskemik böbrek hastalıklarında görülen ve renal işlevlerde azalmayı gösteren bir durum olduğu ifade edilmiştir. Bu da yukarıda belirtilen böbrek toksisitesine yönelik önemli bir bulgu olarak değerlendirilmiştir.

MON863xMON810xNK603

CP4 EPSPS ve CP4 EPSPS L214P transgenik proteinlerin güvenliği (NK603 için) (EFSA, 2003a,b) ile Cry3Bb1 ve nptII proteinlerin güvenliği (MON863 için) (EFSA 2004a,b) EFSA tarafından, Cry1Ab proteinin güvenliği (MON810 için) (SCP, 1998b) ise Bitki Bilimsel Komitesi tarafından önceden değerlendirilmiştir. Proteinlerin fonksiyonel özellikleri göz önüne alındığında ifade edilen proteinler arasında bir etkileşme olasılığı bulunmadığı sonucuna varılmıştır. Ancak komitemiz MON863xMON810xNK603 ile ilgili olarak EFSAya sunulan bu raporu inceleme şansı olmadığı ve bu konuda başka kaynak bulunmadığı için de bu çeşitle ilgili EFSA panel raporundaki değerlendirmeleri dikkate almıştır.

4.2.1. Proteinler dışındaki yeni bileşiklerin toksikolojik değerlendirmesi

Proteinler dışında yeni bileşikler olmadığı için bu değerlendirmeye gerek duyulmamıştır.

4.2.2. Tüm gıda/yemin toksikolojik değerlendirmesi

Subkronik oral toksisite

EFSA 2005 raporunda bu çeşitle ilgili olarak Sprague Dawley sıçan ırkında OECD 408 rehberine göre yapılan 90 günlük subkronik oral toksiste çalışmaları değerlendirilmiştir. Bu çalışmada her grupta 40 hayvan bulunan 3 grup (her grupta 20 erkek 20 dişi) kullanılmıştır. 90 gün boyunca hayvanlara %33 mısır içeren bir yem verilmiştir. Kontrol grubuna %33 oranında benzer bir mısır verilirken diğer 2 gruba ya %33 transgenik mısır veya %11 transgenik mısır+%22 kontrol mısırı içeren yem verilmiştir. Çalışma süresince hayvanlar görünüm ve davranışları yönünden günlük, vücut ağırlıkları ve yem tüketimleri yönünden haftalık olarak kontrol edilmişlerdir. Deney sonunda hayvanların serum ve idrar kimyası ile hematolojik değerleri içeren klinik patolojik ölçümler ve izole edilen doku ve organlar daha ileri mikroskopik tekniklerle incelenmişlerdir. Buna göre;

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

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

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

gözlenmemiştir. Bu nedenle bu bulguların toksikolojiyle ilgili olamayacağı sonucuna varılmıştır.

4.2.3. Allerjenite

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

4.2.4. Tüm genetiği değiştirilmiş bitkinin allerjenitesinin değerlendirilmesi

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

4.2.5. Genetiği değiştirilmiş yemin beslenme ile ilgili değerlendirmeleri

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

GENEL SONUÇ ve ÖNERİLER

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

MON863xMON810xNK603 mısır çeşidi ve bu çeşidi oluşturan ebeveynler ile ilgili kaynaklar ve komitemizin önceki raporları dikkate alındığında; özellikle MON863 ve MON810 mısır çeşitlerinin hepato-renal toksisite başta olmak üzere, dalak, immün sistem, genito-üriner sistem dahil çoklu organ ve sistem zedelenmesini rapor eden yayınların varlığı, MON863 mısır çeşidinin *nptII* antibiyotik direnç geni taşıması ve bu genin bitkiden bakterilere yatay gen geçişinin mümkün olabileceğine ilişkin yayınların varlığı, MON810 mısır çeşidinin genetik kararsızlığı dikkate alınarak, MON863xMON810xNK603 mısır çeşidinin yem olarak kullanılmasının risk taşıyabileceğine oybirliği ile karar verilmiştir.

KAYNAKLAR

- Ahmad, A., Wilde G.,E., Zhu K., Y.** (2005). Detectability of Coleopteran-specific Cry 3Bb1 protein in soil and its effect on nontarget surface and below-ground arthropods. *Environ. Entomol.*, 34: 385-394.
- Baumgarte, S., Tebbe, C.C.** (2005). Field studies on the environmental fate of the Cry1AB Bt toxin produced by transgenic maize (MON810) and its effect on bacterial communities in the maize rhizosphere. *Mol. Ecol.*, 14: 2539-2551.
- Bennett, P.M., Livesey, C.T., Nathwani, D., Reeves, D.S., Saunders, J.R., Wise, R.** (2004). An assessment of the risks associated with the use of antibiotic resistance genes in genetically modified plants: report of the Working Party of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy. *J. Antimicrob. Chemother.*, 53, 418-431. <http://jac.oupjournals.org/cgi/reprint/53/3/418.pdf>.
- CERA**, (2011). Determination of the Safety of Monsanto's Combined trait product corn: MON 810 x NK 603 x MON 863 For Direct use Food, Feed, and Processing.
- Custodio, M.G., Powers, W.J., Huff-Lonergan, E., Faust, M.A., Stein, J.** (2006). Growth, pork quality, and excretion characteristics of pigs fed Bt corn or non-transgenic corn. *Canadian Journal of Animal Science*, 86(4): 462-469. 10.4141/A05-082.
- Dubelman, S., Ayden, B., Bader, B., Brown, C., Jiang, C., Vlachos, D.** (2005). Cry1Ab protein does not persist in soil after 3 years of sustained Bt corn use. *Environ. Entomol.*, 34:915-921.
- Dunlap, F.G., White, P.J., Pollak, L.M.**, (1995). Fatty acid composition of oil from exotic corn breeding materials. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 72, 989-993.
- EFSA**, (2003a). Application for authorization of MON 863 x MON 810 x NK603 maize in the European Union, according to Regulation (EC) No 1829/2003 on genetically modified food and feed
- EFSA**, (2003b). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the safety of foods and food ingredients derived from herbicide-tolerant genetically modified maize NK603 for which a request for placing on the market was submitted under Article 4 of the Novel Food Regulation. (EC) No 258/97 by Monsanto. *The EFSA Journal*, 9, 1-14.
- EFSA**, (2004a). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the Notification (Reference C/DE/02/9) for the placing on the market of insect protected genetically modified maize MON 863 and MON 863 x MON 810, for import and processing, under Part C of Directive 2001/18/EC from Monsanto (Question No EFSA-Q-2003-089) Opinion adopted on 2 April 2004. *The EFSA Journal*, 49: 1-25.
- EFSA**, (2004b). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the safety of foods and food ingredients derived from insect-protected genetically modified maize MON 863 and MON 863 x MON 810, for which a request for placing on the market was submitted under Article 4 of the Novel Food Regulation (EC) No 258/97 by Monsanto (Question No EFSA-Q-2003-121). *EFSA Journal* 50, 1-25. http://www.efsa.eu.int/science/gmo/gmo_opinions/383/opinion_gmo_07_en1.Pdf.
- EFSA**, (2004c). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on the use of antibiotic resistance genes as marker genes in genetically modified plants. *EFSA Journal*, 48, 1-18. http://www.efsa.eu.int/science/gmo/gmo_opinions/384/opinion_gmo_05_en1.pdf

- EFSA**, (2005). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on an application (Reference EFSA-GMO-BE-2004-07) for the placing on the market of insect-protected glyphosate-tolerant genetically modified maize MON863 x MON810 x NK603, for food and feed uses, and import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Monsanto1 (Question No EFSA-Q-2004-159). The EFSA Journal 256, 1-25
- EFSA**, (2007). Opinion of the Scientific Panel on genetically modified organisms on an application (Reference EFSA-GMO-NL-2005-12) for the placing on the market of insect-resistant genetically modified maize 59122, for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003, from Pioneer Hi-Bred International, Inc. and Mycogen. Seeds, c/o Dow Agrosciences LLC (Reference EFSA-Q-2005-045). The EFSA Journal, 470: 1-25
- EFSA**, (2009). Applications (EFSA-GMO-RX-MON810) for renewal of authorisation for the continued marketing of (1) existing food and food ingredients produced from genetically modified insect resistant maize MON810; (2) feed consisting of and/or containing maize MON810, including the use of seed for cultivation; and of (3) food and feed additives, and feed materials produced from maize MON810, all under Regulation (EC) No 1829/2003 from Monsanto. The EFSA Journal, 1149: 1-85.
- FAO** (2009). FAO Statistical Yearbook. <http://faostat.fao.org/site/567>.
- Finamore, A., Roselli, M., Britti, S., Monastra, G., Ambra, R., Turrini, A. and Mengheri, E.** (2008). Intestinal and Peripheral Immune Response to MON810 Maize Ingestion in Weaning and Old Mice. *J. Agric. Food Chem*, 56:11533–11539.
- George, C., Ridley, W.P., Obert, J.C., Nemeth, M.A., Breeze, M.L., Astwood, J.D.** 2004. Composition of grain and forage from corn rootworm-protected corn event MON 863 is equivalent to that of conventional corn (*Zea mays* L.). *J. Agric. Food Chem.*, 52: 4149–4158.
- Hammond, B., Lemen, J., Dudek, R., Ward, D., Jiang, C., Nemeth, M., Burns, J.** (2006). Results of a 90-day safety assurance study with rats fed grain from corn rootworm-protected corn. *Food Chem. Toxicol.*, 44: 147–160.
- Head, G., Surber, J.B., Watson, J.A., Martin, J.W., Duan, J.J.** (2002). No detection of Cry1Ac protein in soil after multiple years of transgenic Bt cotton (Bollguard) use. *Environ. Entomol.*, 31: 30-36.
- Herman, R.A., Evans, S.L, Shanahan D.M., Mihaliak, C.A., Bormett, G.A., Yound, D.L., Buehrer, J.** (2001). Rapid degradation of Cry1F delta-endotoxin in soil. *Environ. Entomol.* 30, 642-644.
- Herman, R.A., Wolt, J.D., Halliday, W.R.** (2002). Rapid degradation of the Cry1F insecticidal crystal protein in soil. *J. Agric. Food Chem.* 50, 7076-7078.
- Hopkins, D.W., Gregorich, E.G.** (2005). Decomposition of residues and loss of the δ -endotoxin from transgenic (Bt) corn (*Zea mays* L.) in soil. *Can. J. Soil Sci.*, 85: 19-26.
- Jones, S.M., Magnolfi, C.F., Cooke, S.K., Sampson, H.A.** (1995). Immunologic cross-reactivity among cereal grains and grasses in children with food hypersensitivity. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 96(3): 341-351.
- Kharazmi M, Hammes WP, Hertel C.**, 2002. Construction of a marker rescue system in *Bacillus subtilis* for detection of horizontal gene transfer in food. *Syst Appl Microbiol.* 2002 Dec;25(4):471-477.
- Kharazmi M, Sczesny S, Blaut M, Hammes WP, Hertel C.**, (2003) Marker rescue studies of the transfer of recombinant DNA to *Streptococcus gordonii* in vitro, in foods and gnotobiotic rats. *Appl Environ Microbiol.* 69(10):6121-6127.

- Kılıç, A. and Akay, M.T.** (2008). A three generation study with genetically modified Bt corn in rats: Biochemical and histopathological investigation. *Food and Chemical Toxicology*, 46:1164-1170.
- Kırtok, Y.** (1998). Mısır Üretimi ve Kullanımı. Ç.Ü. Zir. Fak. Tarla Bitkileri Bölümü. Kocaelik Basım ve Yayınevi, Tarsus
- Krogh, H., Griffiths, B.** (2007). ECOGEN–Soil ecological and economic evaluation of genetically modified crops. *Pedobiol.*, 51: 171-173.
- Kurt, O.** (2010). Bitki Islahı. OMU Ziraat Fakültesi Yayın No: 43 (3. Basım).
- Moneret-Vautrin, D.A., Kanny, G., Beaudouin, E.** (1998). L'allergie alimentaire au maïs existe-t-elle? *Allerg. Immunol.*, 30(7): 230.
- Nap, J.P., Bijvoet, J. and Stiekema, W.J.** (1992). Biosafety of kanamycin-resistant transgenic plants: an overview. *Transgenic Res.*, 1: 239-249.
- OECD** (2003). Consensus document on the biology of *Zea mays* subsp. *Mays* (Maize). Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology.
- OECD** (2007). Consensus document on safety information on transgenic plants expressing *Bacillus thuringiensis*-derived insect control proteins. Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology.
- Pasini, G., Limonato, B., Curioni, A., Vincenti, S., Cristaudo, A., Cantucci, B., Dal BelinPeruffo, A., Giannattasio, M.** (2002). IgE-mediated allergy to corn: a 50 kDa protein, belonging to the Reduced Soluble Proteins, is a major allergen. *Allergy*, 57(2): 98–106.
- Pastorello, E., Farioli, F., Pravettoni, V., Ispano, M., Scibola, E., Trambaioli, C., Giuffrida, M., Ansaloni, R., Godovac-Zimmermann, J., Conti, A.** (2000). The maize major allergen, which is responsible for food-induced allergic reactions, is a lipid transfer protein. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 106(4): 744-751.
- Piva, G., Morlacchini, M., Pietri, A., Piva, A., Casadei, G.** (2001). Performance of weaned piglets fed insect-protected (MON810) or near isogenic corn. *J Anim Sci* 79(Suppl. 1):106(Abstr 441).
- Redenbaugh, K., Hiatt, W., Martineau, B., Lindemann, J., Emlay, D.** (1994). Aminoglycoside 3'-phosphotransferase II: review of its safety and use in the production of genetically engineered plants. *Food Biotech.*, 8:137-165.
- Sagstad, A., Sanden, M., Haugland, Ø., Hansen, A.-C., Olsvik, P.A., Hemre, G.-I.** (2007). Evaluation of stress- and immune-response biomarkers in Atlantic salmon, *Salmon salar* L., fed different levels of genetically modified maize (Bt maize), compared with its near-isogenic parental line and a commercial suprex maize. *Journal of Fish Disease*, 30: 201-212.
- SCP**, (1998a). Opinion of the Scientific Committee on Plants regarding submission for placing on the market of genetically modified, insect-resistant maize lines notified by the Pioneer Genetique S.A.R.L. Company (notification No C/F/95/12-01/B). http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scp/out_10_en.html
- SCP**, (1998b). Opinion of the Scientific Committee on Plants regarding the genetically modified, insect resistant maize lines notified by the Monsanto Company. http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scp/out02_en.html
- Seralini, G.E.** (2005). Report on MON 863 GM maize produced by MONSANTO Company. Controversial effects on health reported after subchronic toxicity test: a confidential rat 90 day feeding study, June. Access: http://www.greenpeace.de/fileadmin/gpd/user_upload/themen/gentechnik/bewertung_monsanto_studie_mon863_seralini.pdf.

- 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.
- Sissener, N.H., Johannessen, L.E., Hevrøy, E.M., Wiik-Nielsen, C.R., Berdal, K.G., Nordgreen, A. and Hemre, G.I.** (2010). Zebrafish (*Danio rerio*) as a model for investigating the safety of GM feed ingredients (soya and maize); performance, stress response and uptake of dietary DNA sequences. *British Journal of Nutrition*, 103, pp 3-15 doi:10.1017/S0007114509991401.
- Vendomois, J.S., Roullier, F., Cellier, D. and Seralini, G.E.** (2009). A Comparison of the Effects of Three GM Corn Varieties on Mammalian Health. *International Journal of Biological Sciences. Int. J. Biol. Sci.*, 5(7):706-726.
- Walsh, M.C., Buzoianu, S.G., Gardiner, G.E., Rea, M.C., Ross, R.P., Cassidy, J.P. and Lawlor, P.G.** (2011). Effects of short-term feeding of Bt MON810 maize on growth performance, organ morphology and function in pigs. *British Journal of Nutrition*. pp.1-8 Available on CJO 2011 doi:10.1017/S0007114511003011.
- Willis H.J., Eldridge, A.L., Beiseigel, J., Thomas, W., Slavin, J.L.** (2009). Greater satiety response with resistant starch and corn bran in human subjects. *Nutr Res.*, 29:100–105.