

RAPOR :

YEM AMACIYLA İTHALİ İSTENEN GENETİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ DAS 59122 MISIR ÇEŞİDİ VE ÜRÜNLERİ İÇİN BİLİMSEL RISK DEĞERLENDİRME RAPORU

RAPORUN HAZIRLANIŞ GEREKÇESİ VE DAYANAKLARI

Bu rapor, mısır kökkurdu larvaları (*Diabrotica* spp.) gibi belirli Coleopter mısır kurtlarına dayanıklı ve glifosinat amonyum herbisitine tolerant genetiği değiştirilmiş (GD) DAS 59122 mısır çeşidinin gıda ve yem amaçlı ithalatı için, 5977 sayılı Biyogüvenlik Kanunu ve ilgili yönetmelik uyarınca Biyogüvenlik Kurulunun 03.03.2011 tarih ve 6 nolu kararı ile oluşturulan ve bu karar doğrultusunda görevlendirilen Bilimsel Risk Değerlendirme Komitesi tarafından hazırlanmıştır. Rapor hazırlanırken çeşitle ilgili ithalatçı firmaca dosyada sunulan belgeler, risk değerlendirilmesi yapan muhtelif kuruluşların (EFSA, WHO, FAO, FDA) görüşleri ve bilimsel araştırmaların sonuçları ile farklı ülkelerde üretim ve tüketim durumları göz önünde bulundurulmuştur. Risk değerlendirmesi gen aktarım yöntemi, aktarılan genin moleküler karakterizasyonu ve ürettiği proteinin ekspresyonu, çeşidin muhtemel alerjik ve toksik etkileri ile çevreye olası riskleri dikkate alınarak yapılmıştır.

İTHALATÇI KURULUŞ

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

İTHAL EDİLMEK İSTENEN ÇEŞİT VE ÜRÜNLERİ

Coleopter mısır kurtlarına dayanıklı ve glifosinat amonyum herbisitine tolerant genetiği değiştirilmiş DAS 59122 kodu ile tanımlanan GD mısır ve küspesi

ÇEŞİDİ GELİŞTİREN KURULUŞ

Pioneer / Dow AgroScience

ÇEŞİDİN GELİŞTİRİLMİŞ AMACI VE ÜRETİMİ

Kültür bitkilerinin ışık, su ve besin maddelerine ortak olarak önemli oranda verim ve kalite düşüklüğüne neden olan yabancı otlarla mücadele genel olarak çapalama, elle yolma ve kimyasal herbisitlerle yapılmaktadır. Yapılan yoğun mücadeleye rağmen yine de yabancı otlar tarım alanlarında önemli oranlarda verim kaybına ve ürün kalitesinin düşmesine neden olmaktadır. Klasik ıslah yöntemleriyle bazı bitki türlerinde herbisitlere dayanıklı çeşitler geliştirilmiş olmakla birlikte, az sayıda türle sınırlı kalmıştır. Öte yandan son yıllarda geliştirilen biyoteknolojik yöntemlerle *bar/pat* veya *epsps* gibi genlerin bitkilere aktarılmasıyla glifosinat amonyum ve glifosat herbisitlerine toleranslı GD bitkiler kolaylıkla elde edilebilmektedir. Dünyada 2010 yılında geniş spektrumlu glifosinat amonyum ve glifosat herbisitlerine toleranslı (HT) soya üretimi 73 milyon hektara ulaşırken, HT kolza üretimi ise 7 milyon hektar civarında olmuştur (James, 2011). Aynı şekilde HT şeker pancarı ve yonca tarımı da yaygınlaşırken, son yıllarda hem böceklerle dayanıklı (*Bt*) hem de HT mısır ve pamuk bitkilerinin üretiminde önemli artışlar gözlenmektedir. Genel olarak HT bitkilerin üretildiği alanlarda verimde önemli artışlar gözlenmezken, seçici herbisitlerle mücadelesi zor olan bazı yabancı otların kontrol edilmesinde HT bitkiler başarılı bir şekilde üretilebilmekte ve verim artışı sağlanabilmektedir (Brookes ve Barfoot, 2008). HT bitkilerin getirmiş olduğu

en önemli avantajlar ise işçilik, mekanizasyon ve akaryakıt maliyetlerindeki azalmadır (Özcan, 2011).

Son yıllarda böcek zararında meydana gelen artışlar, bitkisel üretimi tehdit eder hale gelmiştir. Böceklerle mücadele yapılmadığı takdirde, patates, pamuk, buğday ve mısır gibi bitkilerin veriminde büyük ölçüde azalma meydana gelebilmektedir. Bundan dolayı bu bitkilerde zararlı böceklerle karşı ilaçlama sayısı öngörülenin üzerine çıkabilmektedir. Yoğun bir ilaçlamaya rağmen, böcek zararının oluşturduğu ürün kayıpları %15-20 arasında değişebilmektedir. Zararlı böceklerle mücadelede kültürel ve biyolojik savaş yöntemleri kullanılsa da, en etkili ve yaygın olan yöntem kimyasal insektisit kullanımınıdır. Ancak, bitki kök, gövde ve meyvesi içerisinde gelişme gösteren böcek larvalarına karşı insektisit kullanımı etkisiz olabilmektedir. Öte yandan, tarım ilaçları içerisinde insektisitler çevre, insan ve hayvan sağlığını en fazla tehdit eden grup olarak değerlendirilmekte olup, insanlar tarafından ilaçlama sırasında ve ürünlerle kalıntı şeklinde alındığında geri dönüşümü olmayan biyolojik ve genetik hasarlara yol açabilmektedirler. Yoğun insektisit kullanımı ekonomik kayıplara neden olduğu gibi; toprak ve su kaynaklarının kirlenmesine, arılar, toprak solucanları ve bitkisel üretim için gerekli olan faydalı böceklerle de zarar verebilmektedir. Ayrıca, zararlı böceklerin zamanla kullanılan insektisitlere karşı direnç kazanması sonucunda daha etkili ve toksik insektisitlerin kullanımı da giderek yaygınlaşmaktadır (Çakır ve Yamanel, 2005; Özcan, 2009). Klasik bitki ıslahıyla böceklerle dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi de belirli türlerle sınırlı kalmaktadır. Diğer taraftan, *Bacillus thuringiensis* (Bt) bakterisine ait delta-endotoksin proteinlerinin sentezinden sorumlu olan *cry* (kristal) genlerin bitkilere aktarılmasıyla önemli zararlı böceklerle karşı dayanıklı kültür çeşitleri geliştirilebilmektedir. Dünyada 2010 yılında böceklerle dayanıklı (Bt) mısır üretimi 46 milyon hektara ulaşırken, Bt pamuk üretimi ise 21 milyon hektarı bulmuştur. En fazla Bt mısır üretimi ABD, Arjantin, Kanada ve Güney Afrika gibi ülkelerde gerçekleşirken, Hindistan başta olmak üzere ABD, Çin ve Pakistan en fazla Bt pamuk üreten ülkelerdir. Bt mısır ve pamuğun yaygın olarak üretildiği ülkelerde dolaylı olarak verimde %30'lara varan artış sağlanırken insektisit kullanımında da önemli azalmalar gözlenmektedir (Qaim, 2009; Sadashivappa ve Qaim, 2009). Dayanıklı Bt pamuk ve mısır çeşitleri sayesinde insektisit ve ilaçlama için harcanan yakıt maliyeti en aza indirilerek, verim artışıyla birlikte ürün kalitesinde de önemli gelişmeler gözlenmiştir (Özcan, 2011).

Böceklerle dayanıklı ve herbisitlere toleranslı GD bitkilerin 2010 yılındaki toplam ekim alanı 29 ülkede 148 milyon hektara ulaşmış ve 57 farklı ülkede de yem ve gıda olarak tüketime sunulmuştur (James, 2011). GD bitkilerin yarıya yakını ABD'de üretilmekte olup, bu ülkeyi sırasıyla Brezilya, Arjantin, Hindistan, Kanada, Çin, Paraguay ve Pakistan gibi ülkeler takip etmektedir. Üretimi yapılan en önemli GD bitki türleri ise herbisitlere dayanıklı soya ve kolza ile böceklerle dayanıklı mısır ve pamuktur. 2010 yılında ABD'de üretilen soyanın %91'i mısırın %85'i ve pamuğun %88'i GD çeşitlerden oluşmuştur. Aynı şekilde Arjantin, Uruguay ve Paraguay'da üretilen soya ile Kanada'da üretilen kolzanın ve Hindistan'da üretilen pamuğun %90'dan fazlasını GD çeşitler oluşturmaktadır.

Bu başvuruda, mısır kök kurtlarına dayanıklı ve glifosinat herbisitine tolerant DAS 59122 mısır çeşidi için yem amaçlı ithal izni talep edilmektedir. DAS 59122 çeşidine esas olarak *Bacillus thuringiensis* PS149B1 hattından izole edilen ve mısır kök kurtlarına dayanıklılığı sağlayan **cry34Ab1** ve **cry35Ab1** ile glifosinat amonyum herbisitine karşı toleransı sağlayan *Streptomyces viridochromogenes* kökenli fosfinotrisin asetil-transferaz (**pat**) genleri aktarılmıştır.

RİSK ANALİZİ VE DEĞERLENDİRMESİ

DAS 59122 mısır ve ürünlerine ait bilimsel risk analiz ve değerlendirilmesi, bu çeşidin geliştirilmesinde kullanılan gen aktarım yöntemi, aktarılan genin moleküler karakterizasyonu

ve ürettiği protein, besin değeri, muhtemel alerjik, toksik ve çevreye olası kaçıışı ile oluşabilecek riskler dikkate alınarak yapılmıştır.

Bu çeşitle ilgili bilimsel risk değerlendirilmesi yapılırken, çeşitle ilgili ithalatçı firmaca dosyada sunulan belgeler, risk değerlendirilmesi yapan kuruluşların (EFSA, WHO, FAO, FDA) raporları ve bilimsel araştırmaların sonuçları (alerjik ve toksijenik etki analizleri, genetik modifikasyonun stabilitesi, morfolojik ve agronomik özellikler, hedef dışı organizmalara etkisi vb.) ile farklı ülkelerde üretim ve tüketim durumları göz önünde bulundurulmuştur. Bu GD çeşidiyle yapılan hayvan besleme çalışmaları da incelenerek, 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.

- **Aktarılan genleri taşıyan vektörlerin yapısı ve gen aktarım yöntemi**

DAS 59122 mısır çeşidi pHP17662 ikili vektörünü taşıyan LBA4404 *Agrobacterium tumefaciens* hattı ile gen aktarımı sonucunda elde edilmiştir. pHP17662 vektörünün sağ ve sol T-DNA sınır dizileri içerisinde mısır *ubi1ZM* promotör ve patates *pinII* terminatör bölgeleri tarafından kontrol edilen **cry34Ab1** geni, buğday peroksidaz promotör ve *pinII* terminatör dizileri tarafından kontrol edilen **cry35Ab1** geni ve karnabahar mozayik virüsü CaMV 35S promotör ve terminatör bölgeleri tarafından kontrol edilen **pat** genleri yerleştirilmiştir. *Pat* (phosphinothricin-acetyltransferase) geni *Streptomyces viridochromogenes* bakterisinden izole edilmiştir. *Cry35Ab1* geni ise *Bacillus thuringiensis* PS149B1 irkinden klonlanmış olup, mısıra aktarmadan önce bitkide yüksek protein ifadesi için kodon optimizasyonu yapılmıştır. Yapılan araştırmalar *cry34Ab1* proteininin tek başına mısır kök kurdu larvalarının ölümüne neden olurken, *cry35Ab1* proteininin tek başına etkili olmadığını göstermiştir. Yüksek etki için her iki proteine de ihtiyaç duyulmaktadır (Herman ve ark, 2002). Hipotez olarak *cry34Ab1* proteini böcek bağırsak epitel hücrelerinin reseptör bölgelerine bağlanırken, *cry35Ab1* proteininin ise hücre zarı üzerinde delik oluşturduğu ifade edilmektedir (de Maagd, 2003; EFSA, 2007).

- **Aktarılan genlerin moleküler yapı, ifade ve kararlılık analizleri**

DAS 59122 mısır çeşidine aktarılan DNA parçası ve bu parçayı çevreleyen 3' ve 5' mısır genomu dizi analizine tabi tutulmuştur. Dizi analizleri bitki genomunda T-DNA'nın tek kopya halinde bulunduğunu, T-DNA içerisinde de yeni düzenlemelerin olmadığını ve *cry34Ab1*, *cry35Ab1* ile *pat* gen kasetlerinin tam olduğunu belirlemiştir. T-DNA bölgesinin 5' ve 3' uçlarında sırasıyla 22 ve 23 bp uzunluğunda eksilmeler olurken, bitki genomunda T-DNA dışında vektöre ait DNA dizisi bulunmamış ve buna ilave olarak, aktarılan genlerin nesiller boyunca da kararlılığını devam ettirdiği gözlenmiştir.

Cry34Ab1, *Cry35Ab1* ve *PAT* proteinlerinin DAS 59122 mısır çeşidinin farklı organlarındaki üretim seviyeleri ELISA testiyle belirlenmiştir. Bitki örnekleri 3 farklı ülkede, 11 lokasyondan ve 4 farklı bitki gelişme döneminde toplanmıştır. *Cry34Ab1* ve *Cry35Ab1* proteinleri tüm organlarda bulunurken, *PAT* proteinine ise polenlerde rastlanmamıştır. Polenlerde *Cry35Ab1* proteini düşük seviyelerde bulunurken, *Cry34Ab1* proteinin üretimi 50-74 µg/g (kuru ağırlık) arasında olmuştur. Çevre şartları aktarılan genlerin protein üretim seviyelerinde değişikliğe neden olmuştur. Ükelere göre değişmekle birlikte tohumlardaki *Cry34Ab1* proteininin üretimi 36.4-61.8 µg/g arasında değişirken, *Cry35Ab1* protein üretim seviyeleri 0.99-2.34 µg/g arasında olmuştur. Tüm bitki dokularında *PAT* proteinin üretim seviyesi daima düşük oranlarda (0.0807 µg/g) bulunmuştur.

Sonuç olarak, DAS 59122 mısır çeşidine aktarılan trans-genlerin moleküler ve genetik açıdan kararlılığı farklı çevre koşulları ile farklı genotiplerde generasyonlar boyunca

gösterilmiştir. Ayrıca, çeşitte vektör DNA dizininin olmaması da olumlu bir özellik olarak dikkate alınmıştır.

Kimyasal Kompozisyon ve Tarımsal Özelliklerin Risk Analizi

• Kimyasal Kompozisyon Analizi

Kimyasal kompozisyon analizleri, tarla denemeleri sırasında hasat edilen tohumlarda, çeşitli hayvan türlerinde (kanatlı, besi sığırı, domuz ve sıçan) performans ve laboratuvar çalışmalarını kapsamaktadır. Tarla denemelerinden sağlanan bitkilerin farklı kısımlarında; lif bileşenleri, mineraller, vitaminler, amino asitler, yağ asitleri, protein ve diğer besin madde bileşenleri, ADF, NDF, fitik asit, tripsin inhibitörleri, furfural ve ferulik asit, p-kumarik asit, inositol ve rafinoz analizleri yapılmıştır. Bu analizlerde, GD DAS 59122 mısır çeşidi ile genetiği değiştirilmemiş eşdeğeri arasında farklılıklar (artma/azalma) gözlemlense de, bu farklılıklar doğal değişim sınırları içinde kalmıştır (He ve ark, 2008; Herman ve ark, 2007; Juberg ve ark, 2009; MacKenzie ve ark, 2007; Malley ve ark, 2008).

Broylerlerde yapılan ve 42 gün süren bir araştırmada (McNaughton ve ark, 2007), GD DAS59122 mısır çeşidinin performans ve karkas özelliklerine etkisi irdelenmiştir. Çalışma sonunda GD DAS59122 mısır çeşidinin, broylerlerde mortalite, canlı ağırlık kazanımı, yemden yararlanma ve karkas verimi parametreleri açısından genetiği değiştirilmemiş eşdeğeri ile istatistik yönden farklılık olmadığı vurgulanmıştır. Ayrıca GD DAS59122 mısır çeşidinin besinsel değerlerinin de eşdeğeri ile benzerlik gösterdiği belirtilmiştir.

Yumurta tavuklarında (20 haftalık yaşta) yapılan bir çalışmada (Jacobs ve ark, 2008), GD DAS59122 mısır çeşidinin canlı ağırlık, yemden yararlanma, yumurta verim ve özelliklerine etkisi incelenmiştir. Araştırma sonunda yukarıda ifade edilen parametreler açısından GD DAS 59122 mısır çeşidinin genetiği değiştirilmemiş eşdeğeriyle benzer sonuçlar gösterdiği ortaya konulmuştur.

Besi sığırlarında GD DAS59122 mısır çeşidinin performans parametreleri üzerine etkilerini ortaya koymak amacıyla yapılan bir çalışmada (Huls ve ark, 2008), vücutta yağ dağılımı ve yemden yararlanma oranı değerlerinin gruplar (GD DAS59122 mısır çeşidi tüketen deneme grubu ile genetiği değiştirilmemiş eşdeğeri tüketen kontrol grubu) arasında istatistiksel farklılık göstermediği vurgulanmış, canlı ağırlık değerleri açısından GD DAS59122 mısır çeşidinin genetiği değiştirilmemiş eşdeğerine göre rakamsal olarak daha yüksek bulunmuştur.

Domuzlarda yapılan bir çalışmada (Stein ve ark, 2009), GD DAS59122 mısır çeşidinin performans (canlı ağırlık, canlı ağırlık kazancı ve yemden yararlanma) ve karkas değerleri açısından genetiği değiştirilmemiş eşdeğerine benzer sonuçlar gösterdiği tespit edilmiştir.

• Tarımsal Özelliklerin Analizi

Dow ve Pioneer, 2003 büyüme sezonunda ABD mısır kuşağında 18 farklı tarla denemesi gerçekleştirmiştir. GD DAS59122 mısır çeşidinin hastalık ve zararlılara duyarlılığı GD olmayan eşdeğeri arasında verim, nem düzeyi, %50 püsküllenmeye kadar sıcaklık ihtiyacı, dane yoğunluğu, bitki yüksekliği, koçan yüksekliği, birim alanda sap sayısı, gövde yatması, kök yayılımı, parsel başına düşen koçan sayısı, tepe bütünlüğü gibi özelliklerde kayda değer bir farklılık bulunmamıştır (Environmental assessment for Dow/Pioneer root worm resistant corn, 2005).

Bunların yanında, GD DAS 59122 ile GD olmayan eşdeğeri arasındaki tarımsal özellikleri değerlendirmek için, 2003 yılında The National Institute for Agro-Environmental Sciences (NIAES) tarafından Japonya'da izole alanlarda testler yapılmıştır. Çimlenme özellikleri,

çiçeklenme özellikleri, olgunlaşma süresi, kardeş sayısı, koçan özellikleri, dane özellikleri, sap uzunluğu, hasat zamanı, toprak üstü bölümün yaş ağırlığı gibi özellikler de değerlendirilmiştir. GD DAS 59122 ve kontrolü karşılaştırıldığında, DAS 59122 transgenlerini taşıyan iki çeşitten birinde ortalama sap uzunluğunda istatistiksel olarak önemli bir fark görülmesine rağmen (DAS 59122'de 192.0 cm, GD olmayan mısırdaki 212.3 cm) diğer çeşitlerde kayda değer bir farklılık görülmemiştir. Ek olarak, sap uzunluğu dışında diğer bütün özellikler değerlendirildiğinde GD DAS 59122 mısır ve kontrolü arasında kayda değer bir farklılık görülmemiştir. Erken dönem büyümede dona toleransı, olgun bitkinin yaz koşullarına dayanımı ve kışlama yeteneği, polen boyutu ve canlılığı, tohum üretimi, yaprak dökümü, dormansi, tohum çimlenme hızı, koçanda satır ve sıra sayısı ile yüz dane ağırlığı, izole edilmiş test alanlarında tohum üretim referans özelliklerine göre incelenmiştir. Sonuç olarak GD DAS 59122 mısır ve kontrolü arasında gözlenen özelliklerin tümü incelendiğinde önemli farklılık görülmemiştir (Japanese Biosafety Clearing House, 2006).

Dünyada birçok mısır yetiştirme bölgesinde, farklı yer ve mevsimlerde testler gerçekleştirilmiş olup, GD DAS 59122 mısır çeşidi ve kontrolü arasında, test edilen agronomik ve biyolojik özellikler açısından önemli farklılık olmadığını yönünde veriler elde edilmiştir (CERA, 2011; EFSA, 2009a; EFSA, 2009b).

Sonuç olarak; Bilimsel Komite, GD DAS59122 mısır çeşidinin yukarıda belirtilen besin içeriği, hayvan denemeleri ve tarımsal özellikleri açısından, genetik olarak değiştirilmemiş çeşitlerle benzer olduğu sonucuna varmıştır.

Toksisite Değerlendirilmesi

GD bitkilerin toksisite çalışmaları, bitkiye aktarılan genlerin kodladığı Cry35Ab1, Cry34Ab1 ve fosfotrisin-N-asetiltransferaz (PAT) proteinlerine yönelik olarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmalar, saflaştırılmış Cry proteinlerinin uygulanması ve genetiği değiştirilmiş mısır çeşitlerinden hazırlanan yemler ile hedef hayvanlara (fare, sıçan, kümes hayvanları, domuz, koyun, keçi, inek gibi ruminantlar ve balık) kısa ve uzun süreli yedirilmesi ile gerçekleştirilmiştir. Cry35Ab1 ve Cry34Ab1 ile PAT proteinlerini üreten DAS 59122 mısır çeşidi ile sıçanlar subkronik (90 gün süre ile) beslenmişlerdir. Bu çalışmada incelenen tüm parametreler (vücut ağırlığı/organ ağırlığı, nörolojik davranışlar (FOB ve motor aktivite), oftalmolojik, genel morfolojik, histopatolojik, biyokimyasal, hematolojik incelemeler ve idrar analizi) açısından DAS 59122 genetiği değiştirilmiş mısır çeşidinin kontrol mısır çeşidi kadar besin ve toksikolojik açıdan güvenli olduğunu göstermiştir (Malley ve ark, 2007).

Genetiği değiştirilmiş DAS 59122 ve izogenik kontrolü (091) ile iki dozda (%50 ve %70 wt/wt) mısır unu diyeti kullanılarak sıçanlar Çin toksikoloji rehberine göre 90 gün beslenmişlerdir. Kontrol ve genetiği değiştirilmiş DAS 59122 içeren mısır çeşidi ile beslenmiş olan sıçanlar arasında vücut ağırlığında önemli bir fark bulunmamıştır. İstatistiksel olarak ($p < 0,05$) kontrol ve DAS 59122 ile beslenen sıçanlarda bazı hematolojik ölçütler ve serolojik değerlerde dozlar arasında fark olmayan değişiklikler gözlenmiştir. Bu değişikliklerin ortalama değerleri ise iki mısır çeşidi arasında önemli bulunmamıştır. Bu çalışmanın sonucu GD DAS 59122 mısır çeşidinin kontrol eşdeğeri kadar güvenli olduğunu göstermiştir (He ve ark, 2008).

Akut ve tekrarlanan (28 gün) dozda Coleoptera böcek türlerine karşı GD DAS 59122 mısır çeşidinin dayanıklılığını sağlayan Cry35Ab1 ve Cry34Ab1 Bt proteinleri farelere ağızdan verilerek toksikolojik çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada Cry34Ab1 ve Cry35Ab1 proteinlerinin bulunduğu (2700 ve 1850 mg/kg dozlarda) veya 482 ve 1520 mg/kg 1:1 molar oranda protein katılarak yapılan diyet uygulamalarında akut toksisite gözlenmemiştir. Benzer şekilde, 28 günde bir tekrarlanan dozlarda da protein oranı insanın maruz kalabileceği tahmin edilen en yüksek dozdan bin kat fazla olmasına karşılık herhangi bir olumsuz etki saptanmamıştır. Bu çalışma GD DAS 59122 mısır danelerinde bulunan Cry35Ab1 ve

Cry34Ab1 proteinlerinin insan sağlığı üzerinde risk oluşturmadığını ve eşdeğeri kadar güvenli olduğunu göstermiştir (Juberg ve ark, 2009).

Zhang ve Shi (2011) yaptıkları bir derleme yayında DAS 1507 ve DAS 59122 gibi GD mısır çeşitleri tarafından üretilen PAT ve Cry1F, Cry 34/35Ab1 proteinleri ile kısa (28 gün) ve uzun (90 gün) süre ile yapılan çalışmalarda üreme sistemlerinde, ovaryum ve testis dokularının histopatolojik incelenmesi ile sikluslar üzerinde de olumsuz bir etkinin olmadığı belirtilmektedir.

Domingo ve Bordonaba (2011) DAS 59122 GD mısır çeşidi ile yapılan çalışmalarını derledikleri makalede, söz konusu çeşidin toksikolojik ve alerjik etkisinin olmadığını belirtmişlerdir.

Bakteriyel Cry34Ab1 ve Cry35Ab1 toksinleri ve PAT proteini ile yapılan hayvan denemelerine göre hayvan ve öbür omurgalılara toksik olmadığı bildirilmektedir. Bu durumun insanlar için de toksik olmadığı belirtilmektedir (CERA, 2011).

Sonuç olarak; Bilimsel Komite, GD DAS 59122 mısır çeşidinin toksisite yönünden genetik olarak değiştirilmemiş eşdeğeriyle benzer olduğu sonucuna varmıştır.

Alerjenite Değerlendirmesi

Yeni sentezlenmiş olan proteinlerin genel olarak alınan tüm gıdalarda yüksek konsantrasyonda bulunduğu allerjen olduğu belirtilmektedir (Taylor ve Goodman, 2007). DAS 59122 GD mısır çeşidindeki Cry34Ab1 ve Cry35Ab1 proteinleri ve PAT protein miktarlarının çok düşük olduğu bildirilmektedir. Yapılan araştırmalarda da bu proteinlerin alerjen proteinlerle homoloji göstermediği ve alerjik etkilerinin olmadığı bildirilmektedir (He ve ark, 2008). Ayrıca Cry34Ab1 ve Cry35Ab1 proteinlerinin yüksek sıcaklıklarda tamamıyla parçalandığı belirtilmektedir (CERA, 2011).

Sonuç olarak; Bilimsel Komite, Cry proteinleri ile yapılan çalışmalarda elde edilen değerlendirmeye dayanarak DAS 59122 GD mısır çeşidinin alerjenite yönünden genetik olarak değiştirilmemiş eşdeğeriyle benzer olduğu sonucuna varmıştır.

Çevresel Risk Değerlendirmesi

• Genetik Değişiklikten Kaynaklanabilecek Yayılma Potansiyeli

Gen kaçışının potansiyel kaynakları tohum ve polen olarak bilinmektedir. Mısır tohumlarının hayvanlar aracılığıyla taşınması, tohum yapısı bakımından elverişsiz olup, tohumların doğaya kaçışının ancak yem işleme ve nakliye süreçleri sırasında gerçekleşebileceği düşünülmektedir (Nishizawa ve ark, 2009).

Tarla denemeleri, GD DAS 59122 mısır çeşidinin, kaynağı olan genetik olarak değiştirilmemiş mısır çeşidi ile hayatta kalma, üreme ve yayılma özellikleri bakımından, Coleoptera takımındaki böcek türlerine dayanıklılık ve glifosinat herbisiti uygulaması dışında, herhangi bir fark göstermediği bulunmuştur (FSANZ, 2005). Ayrıca, genetik olarak değiştirilmiş DAS 59122 mısır çeşidinde, istilacı özelliğe neden olacak herhangi bir genetik modifikasyona dair kanıt bulunamamıştır.

Sonuç olarak; Bilimsel Komite, DAS 59122 mısır çeşidinin, çevreye yayılma potansiyeli yönünden genetik olarak değiştirilmemiş eşdeğeriyle benzer olduğu sonucuna varmıştır.

• Bitkiden bitkiye gen kaçıışı

Mısır, yabancı döllenmiş bir bitki olup, polenler rüzgârla çevreye taşınabilmektedir (Treu ve Emberlin, 2000). Ancak yem amaçlı olarak DAS 59122 'nin ülkemize girişi bitkiden bitkiye gen kaçıışının kaza ile çevreye yayılması ile mümkün olabilir (Nishizawa ve ark, 2009). Kültürü yapılan mısır çeşitlerinin ülkemizde yaygın olarak üretilmesi nedeniyle, DAS 59122 mısır çeşidinden yerel ve kültür çeşitlerine gen kaçıışı olasılığı bulunmaktadır (Lu ve Yang, 2009). Bununla beraber mısır tohumlarının ender olarak dormansi göstermesi ve sadece uygun koşullarda izleyen yılda çimlenmesi, tohumların yenmesi, çürümesi, kış zararı ve tarım uygulamaları nedeniyle fideler agro-ekosistemde canlılığını sürdürememektedir (EC, 2003). Bu nedenle, GD DAS 59122 mısır çeşidinin, glifosinat kullanılan araziler dışında, diğer çeşitlere kıyasla daha uyumlu olabileceği düşünülmemektedir.

Bitkiden bakteriye gen kaçıışı

Genetik olarak değiştirilmiş DAS 59122 mısır çeşidinden üretilen besin ve yemlerde bulunan trans-genlerin, insan ve hayvanların sindirim sistemlerinde ve doğada bulunan mikroorganizmalarla karşılaşma riski bulunmaktadır. Bitki DNA'sının memelilerin sindirim sisteminde büyük oranda ve hızla parçalanmasına karşın, kalın bağırsakta DNA parçalarına rastlanabilmektedir (Eede ve ark, 2004). Öte yandan bu gen parçalarının prokaryot genomuyla birleşme olasılığının doğada rastlanılandan daha fazla olmadığı belirtilmektedir (Nielsen, 1998, Keese, 2008; Novel Food Information Health Canada, 2006). Ayrıca, GD DAS 59122 mısır çeşidinde antibiyotiğe direnç geninin bulunmaması ve aktarılan *cry34/35Ab1* ve *pat* genlerinin ökaryotik hücrelerde işlev görecektir şekilde dizayn edilmeleri nedeniyle bu genlerin prokaryotlarda aktif olması da beklenmemektedir (APHIS, 2004; Eede ve ark, 2004; EFSA, 2005; FSANZ, 2005; EC, 2003).

Sonuç olarak; DAS 59122 mısır çeşidi ülkemizde yem amaçlı kullanılacağı ve üretimi yapılmayacağından, kazayla oluşabilecek yayılmalar sonucu gelişen bitkilerden, kültürü yapılan mısır çeşitlerine gen kaçıışının son derece düşük olacağı düşünülmektedir. Ayrıca sindirim sisteminde ve doğada bulunan prokaryotlara da gen geçişinin yok denecek kadar az olduğu sonucuna varılmıştır.

GENEL SONUÇ ve ÖNERİLER

Bilimsel Komite, **GD DAS 59122** mısır çeşidinin yem olarak kullanım amacıyla ithal edilmesinin risklerini değerlendirmiştir. **GD DAS 59122** mısır 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 değerlendirilmesi yapan çeşitli kuruluşların (EFSA, WHO, FAO, FDA, OECD) ve bilimsel araştırmaların sonuçları (alerjik ve toksik etki analizleri, genetik modifikasyonun stabilitesi, morfolojik ve agronomik özellikler, hedef dışı organizmalara etkisi vb.) ile farklı ülkelerde üretim ve tüketim durumları göz önünde bulundurulmuştur. Yine bu GD çeşitle yapılan hayvan besleme çalışmaları da incelenerek yalnızca yem olarak kullanımı sonucu ortaya çıkabilecek riskler değerlendirilmiştir. Ek olarak bu mısır çeşidinin ülkemizde kazayla yayılması durumunda ortaya çıkabilecek tarımsal ve çevresel riskler de göz önünde bulundurulmuştur.

Bilimsel komite, **GD DAS 59122** mısır çeşidinin ve içerdiği Coleoptera mısır kurtlarına dayanıklılığı sağlayan *B. thuringiensis* PS149B1 kökenli **cry34Ab1** ve **cry35Ab1** ve glifosinat amonyum herbisitine toleransı sağlayan *S. viridochromogenes* orijinli **pat** (phosphinothricin-N-acetyltransferase) genleri ile proteinlerini içeren bu çeşidin '**yem olarak**' kullanılmasının uygun olabileceği kanısına varmıştır.

Karşılaştırmalı analizler ile, **GD DAS 59122** mısır çeşidinin, geleneksel mısır çeşitleri kadar güvenli olduğu, alerjenite bakımından bir değişikliğe uğramadığı ve besin içeriği ile tarımsal özellikleri açısından da bir fark bulunmadığı saptanmıştır. **GD DAS 59122** mısır çeşidinin kazayla çevreye yayılması durumunda, geleneksel çeşitlerden farklı bir çevresel etkinin oluşması olasılığının da çok düşük olduğu sonucuna varılmıştır.

GD DAS 59122 mısır çeşidinde kimi antinütrisyonel bileşikler ve ikincil metabolitler anlamlı olmayan düzeyde bulunmaktadır. PAT proteinleri, insanlar dahil hedef organizmalar için güvenlidir. Bu bileşim analizlerine göre, DAS 59122 mısır çeşidi, halen yetiştirilen, pazarlanan ve tüketilen hibrid mısır çeşitlerine göre nutrisyonel ve antinutrisyonel bileşim bakımından farklı değildir (CERA, 2011).

Erişilebilen bu bilgiler ışığında, Bilimsel Risk Değerlendirme Komitesi, **GD DAS 59122** mısır danesinin '**yem olarak**' kullanılmasının, insan, hayvan ve çevre açısından istenmeyen etkilerinin, genetiği değiştirilmemiş eşdeğer çeşitten daha yüksek olmayacağı kanısına varmıştır.

Risk Yönetimi

Özellikle bitki dışı organizmalardan klonlanarak GD bitkilerinin geliştirilmesinde kullanılan gen/genlerin, gerek GD bitkilerinin gerekse bunları tüketen hayvanların genomlarındaki olası olumsuz etkilerinin kısa sürede tam olarak ortaya çıkmayacağı göz önünde bulundurulmalıdır. Bu görüşü doğrulayan USDA, FDA, EPA, CDC gibi ABD devlet kurumları, biyoteknoloji şirketlerini kapsamlı saha ve güvenlik araştırmalarına yönlendiren mevzuat düzenlemeleri yapmaktadırlar. Bu çerçevede oluşturulan kararlara göre; 1) Tarımsal ürünler ve hayvan yemleri geliştirmek için biyoteknolojik yöntemlerin kullanımı gerekli olabilmektedir, 2) Biyoteknolojik yöntemlerle üretilen yemler, kesin bilimsel temellere dayanmak zorundadır, 3) Et, süt ve yumurtanın güvenliği, bilimsel kanıta dayalı risk öngörüsü süreçleri ile uygun biçimde kamu kurumları ve araştırmacıları tarafından sağlanmalıdır (Heinemenn, 2009).

Risk yönetiminin planlanması ve bu planının uygulanması Bilimsel Risk Değerlendirme Komitesi'nin sorumluluğu dışındadır. Ancak Komite, İthalatçı firma tarafından sunulan risk yönetim planını, bilimsel içerik yönünden değerlendirir. **GD DAS 59122** mısır çeşidine ait tohumların taşınma ve işlenmesi sırasında kazayla çevreye yayılması sonucu olası çevresel riskler ortaya çıkabilir. Bu durumda 5977 sayılı Biyogüvenlik Kanunu ve ilgili yönetmelikler uyarınca gerekli önlemler alınmalıdır. İthalatçı firma tarafından sunulması gereken risk yönetim planı;

1. **GD DAS 59122** mısır çeşidinin çevre, hayvan ve insan sağlığı üzerinde olumsuz etkileri dikkate alınarak, merkezi sistem yolu ile ithalatçı firma tarafından ürünü işleyenler ve kullanıcılar bilgilendirilmelidir.
2. Ürünün dağıtımını yapan ve kullanan kişiler tarafından kaydedilen bilgilerin paylaşılması için ulusal düzeyde bir eşgüdüm ve bilgi sistem ağı (**Europa Bio benzeri**) kurulmalıdır.
3. Elde gözetim sistemi ağı varsa, bu amaçla kullanılabilir. GD ürünlerin kaza ile ve/veya sabotajla büyük ölçekte çevreye yayılması durumlarında alınacak hızlı ve kapsamlı önlemlerin **Ulusal Afet Planlarıyla** ilişkilendirilerek değerlendirilmesi ve planlanması uygun olacaktır.

4. İthalatçı firma, yıllık olarak genel bir gözetim raporunu ve ithal izin süresinin sonunda genel bir değerlendirme raporunu Bakanlığa sunacaktır. Doğrulan bir olumsuz etki durumunda ithalatçı firma, ilgili Bakanlık birimlerini bilgilendirmek zorundadır.

KAYNAKLAR

Aphis, 2004. Application for the Determination of Nonregulated Status for *B.t. Cry34/35Ab1* Insect-Resistant, Glufosinate-Tolerant Corn: Corn Line 59122.
www.aphis.usda.gov/brs/aphisdocs/03_35301p.pdf

Brookes G, Barfoot P, 2005. GM Crops: The Global Socioeconomic and Environmental Impact-The First Nine Years. Dorchester: PG Econ.

CERA, 2011. Center for Environmental Risk Assessment. A Review of the Environmental Safety of the PAT Protein. ILSI Research Foundation. 1156 Fifteenth Street N.W., Washington D.C. 20005-1743 USA. http://www.cera-gmc.org/?action=gm_crop_database&mode=Submit&evidx=496, 13.6.11

Çakır Ş, Yamanel Ş, 2005. Böceklerde insektisidlere direnç. Gazi Üniversitesi Kırşehir Eğitim Fakültesi Dergisi, 6: 21-29.

De Maagd RA, Bravo A, Berry C, Crickmore N, Schnepf HE, 2003. Structure, diversity, and evolution of protein toxins from spore-forming entomopathogenic bacteria. *An Rev Genet*, 37:409-33.

Eede G van den, Aarts H, Buhk H-J, Corthier G, Flint H J, Hammes W, Jacobsen B, Midtvedt T, Vossen J. van der , Wrijt A. von, Wackernagel W, Wilcks A, 2004. The relevance of gene transfer to safety of food and feed derived from genetically modified (GM)plants. *Food and Chemical Toxicology*, 42: 1127-1156.

EC, 2003. Summary of the application for authorisation of Genetically modified 59122 maize and derived food and feed in accordance with regulation (EC) 1829/2003 including Authorisation for cultivation in accordance with Directive 2001/18/EC

EFSA, 2005. Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on an application for the placing on the market of insect-tolerant genetically modified maize 1507, for food use, under Regulation (EC) No 1829/2003 from Pioneer Hi-Bred International/Mycogen Seeds. *The EFSA Journal*, 182: 1-22

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. *The EFSA Journal* (2007) 470, 1-25.

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. Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on an application (Reference EFSA-GMO-NL-2005-15) for the placing on the market of the insect-resistant and herbicide-tolerant genetically modified maize 1507 x 59122, for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Mycogen Seeds, c/o Dow AgroSciences LLC and Pioneer Hi-Bred International, Inc. as represented by Pioneer Overseas Corporation, The EFSA Journal 1074, 1-28.

Environmental assessment for Dow/Pioneer root worm resistant corn, 2005. Approval of Mycogen Seeds/Dow AgroScience LLC and Pioneer Hi-Breed International, Inc. Request 03-353-01p) Seeking a Determination of Non-regulated Status for *Bt* Cry34Ab1/35Ab1 Insect Resistant, Glufosinate Tolerant Corn Line 59122-7

FSANZ, 2005. Food derived from insect-protected, glufosinate ammonium tolerant corn line 59122-7, Food Standards Australia New Zealand.

He XY, Tang MZ, Luo YB, Li X, Cao SS, Yu JJ, Delaney B, Haung KL, 2008. Comparison of grain from corn rootworm resistant transgenic DAS-59122-7 maize with non-transgenic maize grain in a 90-day feeding study in Sprague-Dawley rats Food and Chem Toxicol, 46: 1994-2002.

He XY, Haung KL, Li X, Qin W, Delaney B, Luo YB, 2009. A 90- day toxicology study of transgenic lysine-rich maize grain (Y642) in Sprague-Dawley rats. Food and Chem Toxicol, 47: 425-432.

Herman RA, Scherer PN, Young DL, Mihaliak CA, Meade T, Woodsworth AT, Stockhoff BA, Narva KE, 2002. Binary insecticidal crystal protein from *Bacillus thuringiensis*, strain PS149B1: effects of individual protein components and mixtures in laboratory bioassays. J. Econ. Entomol, 95(3): 635-639.

Herman RA, Storer NP, Phillips AM, Prochaska LM, Windels P, 2007. Compositional assessment of event DAS-59122-7 maize using substantial equivalence. *Regul. Toxicol. Pharmacol*, 47(1): 37-47.

Huls TJ, Erickson GE, Klopfenstein TJ, Luebke MK, Vander Pol KJ, Rice DW, 2008. Effect of Feeding DAS-59122-7 Corn Grain and Nontransgenic Corn Grain to Individually Fed Finishing Steers. *Professional Animal Scientist* (Dec 1, 2008).

Jacobs CM, Utterback PL, Parsons CM, Rice D, Smith B, Hinds M, Liebergesell M, Sauber T, 2008. Performance of laying hens fed diets containing DAS-59122-7 maize grain compared with diets containing nontransgenic maize grain. *Poultry Science*, 87(3): 475-479.

James C, 2011. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops (www.isaaa.org).

Japanese Biosafety Clearing House, 2006. Outline of the biological diversity risk assessment report: Type 1 use approval for DAS-59122-7. Japan Biosafety Clearing House (BCH). Tokyo, Japan.

Juberg RD, Herman AR, Thomas J, Brooks KJ, Delaney B, 2009. Acute and repeated dose (28 day) mouse oral toxicology studies with Crt34Ab1 and Cry35Ab1 Bt proteins used in coleopteran resistant DAS-59122-7. *Regul. Toxicol. Pharmacol*, 54: 154-163.

Keese P, 2008. Risks from GMOs due to Horizontal Gene Transfer. *Environ. Biosafety Res*, 7: 123-149.

Lu BR, Yang C, 2009. Gene flow from genetically modified rice to its wild relatives: Assessing potential ecological consequences. *Biotechnology Advances*, 27: 1083-1091.

MacKenzie SA, Lamb I, Schmidt J, Deege L, Morrissey MJ, Harper M, Layton RJ, Prochaska LM, Sanders C, Locke M, Mattsson JL, Fuentes A, Delaney B, 2007. Thirteen week feeding study with transgenic maize grain containing event DAS-Ø15Ø7-1 in Sprague-Dawley rats. *Food Chem Toxicol*, 45(4): 551-562.

Malley LA, Everds NE, Reynolds J, Mann PC, Lamb I, Rood T, Schmidt J, Raymond J, Layton RJ, Prochaska LM, Hinds M, Locke M, Chui CF, Claussen F, Mattsson JL, Delaney B, 2007. Subchronic feeding study of DAS-59122-7 maize grain in Sprague-Dawley rats. *Food and Chem. Toxicol*, 45: 1277- 1292

McNaughton J, Roberts M, Rice D, Smith B, Hinds M, Schmidt J, Locke M, Bryant A, Rood T, Layton R, 2007. Feeding performance in broiler chickens fed diets containing DAS-59122-7 maize grain compared to diets containing non-transgenic maize grain. *Animal Feed Science and Technology*, 132(3): 227-237.

Nielsen KM, Bones AM, Smalla K, Elsas JD van, 1998. Horizontal gene transfer from transgenic plants to terrestrial bacteria- a rare event? *FEMS Microbiology Reviews*, 22:79-103.

Nishizawa T, Nakajima N, Aono M, Tamaoki M, Kuba A, Saji H, 2009. Monitoring the occurrence of genetically modified oilseed rape growing along a Japanese roadside: 3-year observations. *Environ. Biosafety Res*, 8: 33-44.

Novel Food Information, Health Canada, 2006. *Bacillus thuringiensis (B.t) Cry34/35/Ab1* insect resistant, glufosinate-tolerant transformation corn event DAS-59122-7, http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/gmf-agm/appro/nf-an125decdoc_e.html

Özcan S, 2009. Modern Dünyanın Vazgeçilmez Bitkisi Mısır: Genetiği Değiştirilmiş (Transgenik) Mısırın Tarımsal Üretime Katkısı. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 2: 1-34.

Özcan S, 2011. Genetiği değiştirilmiş bitkiler ve sosyo-ekonomik etkileri. Uluslararası Katılımlı 1. Ali Numan Kırış Tarım Kongresi ve Fuarı 27-30 Nisan 2011, Eskişehir. Cilt 1: 75-82.

Qaim M, 2009. The Economics of Genetically Modified Crops. *Annu. Rev. Resour. Econ*, 1: 665–669.

Rasmussen MA, Sarra AC, Wilhelms K, Scanes CG, 2007. Effect of Bt (*Bacillus thuringiensis*) corn on reproductive performance in adult laying hens. *Inter. J. Poultry Science*, 6: 169-171.

Sadashivappa P, Qaim M, 2009. Effects of Bt cotton in India during the first five years of adoption. Presented at Int. Assoc. Agric. Econ. Triennial Conf., Beijing, China.

Stein HH, Rice DW, Smith BL, Hinds MA, Sauber TE, Pedersen C, Wulf DM, Peters DN, 2009. Evaluation of corn grain with the genetically modified input trait DAS-59122-7 fed to growing-finishing pigs. *Journal of Animal Science*, 87: 1254-1260.

Treu R, Emberlin J, 2000. Pollen dispersal in the crops Maize (*Zea mays*), Oil seed rape(*Brassica napus ssp oleifera*), Potatoes (*Solanum tuberosum*), Sugarbeet (*Beta vulgaris ssp. vulgaris*) and Wheat (*Triticum aestivum*).

Zang W, Shi F, 2011. Do genetically modified crops affect animal reproduction? A review of the ongoing debate. *The Animal Consortium Animal*, 1-2.