

RAPOR :

YEM AMACIYLA İTHALİ İSTENEN GENETİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ NK603 X MON810 MISIR ÇEŞİDİ VE ÜRÜNLERİ İÇİN BİLİMSEL RİSK DEĞERLENDİRME RAPORU

RAPORUN HAZIRLANIŞ GEREKÇESİ VE DAYANAKLARI

Bu rapor, Lepidopter mısır kurtlarına (*Ostrinia nubilalis* ve *Sesamia* spp.) dayanıklı ve glifosat herbisitlerine tolerant genetiği değiştirilmiş (GD) **NK603 X MON810** mısır çeşidinin 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 ifadesi, 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

Lepidopter mısır kurtlarına dayanıklı ve glifosat herbisitine tolerant genetiği değiştirilmiş **NK603XMON810** kodu ile tanımlanan GD mısır ve küspesi

ÇEŞİDİ GELİŞTİREN KURULUŞ

Monsanto

ÇEŞİDİN GELİŞTİRİLME 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 2005). 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 ergin böcek ve 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 çeşitlerinden 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, Lepidoptera mısır kurtlarına dayanıklı ve glifosat herbisitine tolerant **GD NK603XMON810** mısır çeşidi için yem amaçlı ithal izni talep edilmektedir. GD NK603 mısır çeşidine esas olarak *Agrobacterium tumefaciens*’den izole edilen ve **glifosat** herbisitine toleransı sağlayan **cp4 epsps** geni aktarılırken, GD MON810 çeşidine ise *Bacillus thuringiensis kurstaki* orijinli olan ve mısır kurtlarına dayanıklılığı sağlayan **cry1Ab** geni aktarılmıştır. Aynı ayrı elde edilen her iki çeşit, normal ıslah yöntemleriyle melezlenerek tüm özellikler GD NK603XMON810 melez mısır çeşidinde toplanmıştır.

RİSK ANALİZİ VE DEĞERLENDİRMESİ

GD NK603XMON810 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**

GD NK603 mısır çeşidine esas olarak *Agrobacterium tumefaciens*’den izole edilen ve **glifosat** herbisitine toleransı sağlayan **cp4 epsps** geni aktarılırken, GD MON810 mısır çeşidine *Bacillus thuringiensis kurstaki* suşundan izole edilen ve özellikle Lepidoptera mısır kurtlarına dayanıklılığı sağlayan **cry1Ab** geni aktarılmıştır. Aynı ayrı elde edilen her iki çeşit, normal ıslah yöntemleriyle melezlenerek mısır kurtlarına dayanıklılık ile glifosat herbisitlerine tolerans GD NK603XMON810 mısır çeşidinde birleştirilmiştir.

GD NK603

Taşıyıcı vektör olarak PV-ZMGT32 kullanılmıştır. Vektör birbirine bitişik ve *Arabidopsis thaliana* EPSPS dizleri esas alınarak oluşturulan kloroplast peptit transfer dizinine (CTP) bağlanmış ve her birinde tek kopya halinde *Agrobacterium tumefaciens*'in CP4 suşu kökenli **cp4 epsps** (5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase) geni bulunan iki bitki eksperasyon kasetinden oluşmuştur. CTP, *epsps* genine ait proteinin kloroplastlarda lokalizasyonunu sağlamaktadır. İlk *ctp2-cp4 epsps* kasatinde, kodlama bölgesi 5' CTP uca bağlanan çeltik aktin promotör ve çeltik intron dizileri tarafından kontrol edilmektedir. İkinci kasette ise, *ctp2-cp4 epsps* dizileri, geliştirilmiş karnabahar virüsü (CaMV) 35S promotör ie mısır ısı şok proteinini kodlayan genden türetilen intron tarafından düzenlenmiştir. Her iki kasettede de *Agrobacterium tumefaciens*'in nopalin sentez genine ait (NOS 3') diziler terminatör olarak kullanılmıştır. Ayrıca PV-ZMGT32 vektörü, bakteriyel seçici markör gen olarak Tn5 transpozonuna ait *nptII* genini taşımaktadır. Bu vektör, *nptII* geni dışarıda kalacak şekilde *MluI* enzimiyle kesilerek, sadece ekspresyon kasetlerini içeren ve PV-ZMGT32L olarak adlandırılan DNA parçası elde edilmiştir. Saflaştırılan PV-ZMGT32L **partikül bombardımanı** ile embriyonik mısır hücrelerine aktararak GD NK603 mısır çeşidi elde edilmiştir (EFSA 2003).

- **Aktarılan genlerin moleküler yapı, ekspresyon ve stabilite analizleri**

Yapılan moleküler analizlerde NK603 çeşidinin her iki *ctp2-cp4 epsps ekspresyon* kasetini de taşıdığı ve ilk kasette değişiklik olmazken, ikinci kasette 2 nükleotidlik bir değişiklik meydana gelerek 214.amino asit pozisyonunda prolininin yerine leusin üretilmiştir. Yapılan Southern blot ve PCR analizlerinde PV-ZMGT32L DNA parçasının tek kopya halinde bitki genomuyla birleştiği ve plazmid DNA'ya ait başka DNA parçasının bitki genomuyla birleşmediği belirlenmiştir. Aktarılan DNA parçasında ufak çaplı bazı yeni düzenlemeler olmuştur ise de, gen ifadesini etkilememiş ve gen aktarımı yapılan mısır hattında fenotipik bir değişikliğe yol açmamıştır. İlave olarak, aktarılan genlerin nesiller boyunca da stabilitesini devam ettirdiği gözlenmiştir.

GD MON810

GD MON810 mısır çeşidi, PV-ZMBK07 ve PV-ZMGT10 plazmitlerinin partikül bombardımanı sonucunda elde edilmiştir. PV-ZMBK07 plazmidi çift e35S ifade artırıcı (enhancer) bölgesini taşıyan karnabahar virüsü (CaMV) promotörü, mısır ısı şok protein (*Hps70*) genine ait bir intronunu, *Bacillus thuringiensis kurstaki*'ye ait *cry1Ab* genini, *nos* terminatörünü, bir lac operon parçasını, *ori-pUC* replikasyon orijinini ve seçici markör olarak da *nptII* genini içermektedir. Diğer taraftan PV-ZMGT10 plazmiti ise; e35S promotörü, *Hsp70* intronunu, *Arabidopsis thaliana*'ya ait CPT1 ve CPT2 transit peptitlerini, *Agrobacterium* türlerinden elde edilen ve glifosat herbisitine toleransı sağlayan *cp4 epsps* genini, glifosat enzimini metabolize eden *gox*

(*Ochrobactrum anthropi* sp.'den) genini, *nos* terminatör bölgesini, *ori-pUC* ve *nptII* genini taşımaktadır (EFSA 2009).

- **Aktarılan genlerin moleküler yapı, ifadesi ve stabilite analizleri**

Moleküler analizler GD MON810 mısır çeşidinin tek kopya olarak, PV-ZMBK07 plazmitinde bulunan geliştirilmiş 35S promotörü, *Hsp70* mısır intornunu, etkili bir şekilde Cry1Ab proteinini üreten *cry1Ab* kodlama bölgesini ve ilave olarak e35S promotörünün 3' ucunu ve *cry1Ab* geninin kodlama bölgesine ait 5' ucunun bir bölümünü de içerdiği belirlenmiştir. Ayrıca, GD MON810 çeşidinin PV-ZMBK07 ve PV-ZMGT10 plazmitlerine ait başka bir DNA parçası ile *nptII* genini de taşımadığı teyit edilmiştir.

1994 ve 1995 yıllarında ABD ve Fransa'da yapılan tarla denemelerinde farklı dokularda Cry1Ab, CP4 EPSPS ve GOX proteinlerinin miktarına bakılmıştır. Bitki DNA'sında *cp4 epsps* ve *gox* genleri bulunmadığından, farklı dokularda CP4 EPSPS ve GOX proteinlerine rastlanmamıştır. Cry1Ab protein miktarları ise genç yaprak dokuda 7.59-10.34 µg/g; tüm bitkide 3.65-9.23 µg/g ve hasat edilen tohumlarda 0.19-0.69 µg/g arasında değişmektedir. Ayrıca, GD MON810 mısır çeşidine aktarılan trans-genlerin moleküler ve genetik açıdan farklı çevresel koşullarda, farklı genotiplerde ve döller boyunca kararlı olduğu gösterilmiştir.

GD NK603xMON810

GD NK603 ve GD MON810 mısır hatları melezlenerek NK603xMON810 melezi elde edilmiştir. Yürütülen DNA-DNA melezlemesi (Southern blot) analizlerinde NK603 ve MON810'a ait genetik materyalin NK603xMON810 melezinde birleştiği ve aktarılan genlerin korunduğu doğrulanmıştır (EFSA 2005).

Değişik bölgelerde yapılan tarla denemelerinden elde edilen yeşil aksam ve tohum materyalinde CP4 EPSPS ve Cry1Ab proteinlerin miktarları belirlenmiştir. Yeşil aksamda CP4 EPSPS protein miktarı 36±16,7 µg/g olurken, tohumlarda 12,7±6,8 µg/g kaydedilmiştir. Cry1Ab proteinin miktarı ise yeşil aksamda 6.06±1.87 µg/g ve tohumlarda 0.73±0.14 µg/g olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak, daha önce NK603 ve MON810 çeşitlerinde ayrı ayrı genetik stabilite belirlendiği şekilde, ilgili genler GD NK603xMON810 melez çeşitte birleşmiş ve genetik yapı ile protein üretimi yeni çeşitte de korunmuştur.

Kimyasal Bileşim ve Tarımsal Özelliklerin Risk Analizi

- **Kimyasal Bileşim Analizi**

GD NK603

Söz konusu analizler, tarla denemeleri sırasında hasat edilen tohumlarda, çeşitli hayvan türlerinde gerek performans ve gerekse laboratuvar çalışmalarını kapsamaktadır. Tarla denemelerinden sağlanan bitkilerin farklı kısımlarında; protein ve diğer besin madde bileşenleri, mineraller (Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, P, K, Na, Zn), vitaminler, amino asitler, yağ asitleri, ADF, NDF, fitik asit, tripsin inhibitörleri, furfural ve ferulik asit, p-kumarik asit, ve rafinoz analizleri yapılmıştır. Bu analizlerde, GD NK603 mısır çeşidi ile genetiği değiştirilmemiş eşdeğeri arasında farklılıklar (artma/azalma) gözlenirse de, bu farklılıklar doğal biyolojik değişim sınırları içinde kalmıştır (Esteve-Garcia ve Llaurodo 1997, Kidd ve Kerr 1997, Lei ve Van Beek 1997, Smith ve ark. 1998, Farran ve ark 2000, Peak ve ark 2000, Grey 1983) Ayrıca, kanatlı, besi sığırları, süt ineği, domuz ve sıçanlarda yapılan çalışmalarda, performans değeri incelenmiştir.

- Broilerlerde yapılan ve 42 süren bir araştırmada (Taylor ve ark 2003), GD NK603 mısır çeşidinin besi performansı ve karkas özelliklerine etkisi irdelenmiştir. Çalışma sonunda NK603 mısır çeşidinin, broylerlerde ölüm oranı, canlı ağırlık kazancı, yemden yararlanma ve karkas verimi parametreleri açısından genetiği değiştirilmemiş eşdeğeri ile istatistik yönden farklılık olmadığı vurgulanmıştır. Ayrıca NK603 mısır çeşidinin besinsel değerlerinin eşdeğeri ile benzerlik gösterdiği belirtilmiştir.
- Besi sığırlarında ve süt ineklerinde yapılan çalışmalarda (Erikson ve ark 2003, Grant ve ark 2003, Ipharraguerre ve ark 2003) GD NK603 mısır çeşidinin besin değeri açısından genetiği değiştirilmemiş eşdeğeri ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.
- William ve ark. (2002), yaptıkları bir çalışmada dokuz farklı tarlada iki yıl boyunca elde edilen ürünlerde besin madde yönünden analizler yapılmış ve NK603 mısır çeşidinin eşdeğeri ile benzerlik gösterdiği belirtilmiştir. Ayrıca elde edilen ürünlerde olumsuz bir etkiye de rastlanılmadığı vurgulanmıştır.
- GD NK603 mısır çeşidi ile yapılan tüm hayvan denemeleri sonucunda hayvanların sağlığı açısından olumsuz bir tablonun görülmediği kanısı ağırlık kazanmıştır (Esteve-Garcia ve Llaurodo 1997, Kidd ve Kerr 1997, Lei ve Van Beek 1997, Smith ve ark 1998, Farran ve ark 2000, Peak ve ark 2000, Grey 1983, Willam ve ark 2002, Taylor ve ark 2003, Erikson ve ark 2003, Grant ve ark 2003, Ipharraguerre ve ark 2003).

GD MON810

- Sıçanlarda yapılan bir çalışmada, 60 farklı biyokimyasal parametre değerlendirmeye alınmıştır. Çalışmada hepatorenal toksik belirtiler saptanmış

olmakla birlikte bu etkinin daha çok yeni pestisit türlerinden kaynaklanabileceği vurgulanmıştır. Araştırmacılar yaptıkları çalışma sonuçlarını genel olarak değerlendirdiklerinde, genetik modifikasyonda gerek doğrudan ve gerekse dolaylı olarak meydana gelen istenmeyen etkilerin varlığının göz ardı edilemeyeceğine karar vermişlerdir (Vendômois ve ark 2009).

- Broylerlerde yapılan çalışmada ise, GD MON810 mısır çeşidi tüketen deneme gruplarında kesim öncesi ağırlığı 2.09 kg iken, genetiği değiştirilmemiş eşdeğerinde 2.15 kg bulunmuştur. Aynı şekilde yemden yararlanma oranları da sırasıyla 1.72 ve 1.77 olarak tespit edilmiştir. Çalışma sonunda, GD MON810 mısır çeşidinin genetiği değiştirilmemiş eşdeğerine göre istatistik yönden önemli farklılık saptanmamıştır (Taylor ve ark 2003).
- Broylerlerde yapılan çalışmada GD MON 810 mısır çeşidinin yem tüketimi, canlı ağırlık artışı (CAA), ölüm oranı ve karkas özellikleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonucunda, MON810 mısır çeşidinin genetiği değiştirilmemiş eşdeğerine göre yukarıda belirtilen parametreler açısından benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir (Lucas ve ark 2007, Kadlec ve ark 2009).
- Somon balıklarında yapılan çalışmada, GD MON810 mısır çeşidinin genetiği değiştirilmemiş eşdeğerine göre söz konusu balık rasyonlarında %6'ya kadar güvenli bir biçimde kullanılabileceği yargısına varılmıştır (Bakke ve ark 2008).
- Somon balıklarında yapılan diğer bir çalışmada (Sagstad ve ark 2007), GD MON810 mısır çeşidinin genetiği değiştirilmemiş eşdeğerine göre stres protein seviyesi ve aktivitesinde değişiklikler saptanmış, ancak elde edilen bu değerlerin kabul edilebilir sınırlar içinde olduğu vurgulanmıştır. Diğer yandan GD MON810 mısır çeşidi ile beslenen balıklarda genetiği değiştirilmemiş eşdeğerine göre granulosit, monosit ve lenfosit sayılarında benzer değerler elde edilmiştir.
- Domuzlarda yapılan araştırmada, canlı ağırlık, yem tüketimi ve yemden yararlanma oranları bakımından GD MON810 mısır çeşidinin genetiği değiştirilmemiş eşdeğerine göre önemli farklar göstermediği saptanmıştır (Rossi ve ark 2011).
- Donkin ve ark (2003) iki yıl süren tarla denemeleri yapmışlardır. Bu çalışma kapsamında GD MON810 mısır çeşidi ile genetiği değiştirilmemiş mısır çeşitlerinden yapılan silajlar süt ineklerine verilmiş ve çeşitli parametreler değerlendirilmeye alınmıştır. Çalışma sonunda, GD MON810 mısır çeşidinin genetiği değiştirilmemiş eş değerine göre yem tüketimi, süt yağ oranı, süt verimi ve kompozisyonunu önemli düzeyde etkilememiş ve rumen sindiriminde de benzer değerler alınmıştır.

- 400 adet sıçanda yapılan çalışmada, canlı ağırlık, yem tüketimi, yemin kompozisyonu, klinik patolojik parametreler (hematoloji, biyokimyasal kan parametreleri, idrar analizi), organ ağırlıkları, mikroskopik parametreler değerlendirilmeye alınmıştır. Çalışmada, GD MON810 mısır çeşidinden genetiği değiştirilmemiş eşdeğerine göre yukarıda belirtilen parametreler açısından benzer sonuçlar elde edilmiştir (Hammond ve ark 2006).
- GD MON810 mısır çeşidi ile iki ay beslenen süt ineklerinin serumunda, Cry1Ab proteininin varlığı incelenmiştir. Araştırma sonucunda söz konusu proteinin varlığı tespit edilmiş ancak bu değerlerin toksik düzeyde olmadığı belirlenmiştir (Paul ve ark 2007).
- Süt ineklerinde yapılan çalışmada (Steinke ve ark 2010), 36 hayvan üzerinde MON810 mısır çeşidinin genetiği değiştirilmemiş eş değerine göre etkileri irdelenmiştir. Çalışma sonunda, MON810 mısır çeşidinin genetiği değiştirilmemiş eş değerine göre kimyasal bileşim, protein seviyesi, yem tüketimi, süt bileşenleri ve vücut kondüsyonu üzerine önemli bir etki yapmadığı ve benzer değerlerin alındığı ifade edilmiştir.

Sonuç olarak; Bilimsel Komite, **GD NK603XMON810** melez mısır çeşidinin yem amaçlı kullanılmasını genel olarak değerlendirdiğinde; yapılan birçok hayvan besleme çalışmalarında incelemeye alınan parametreler açısından genetik olarak değiştirilmemiş çeşidi ile istatistik olarak önemli farklılıkların olmadığı veya benzer olduğu sonucuna varmıştır.

- **Tarımsal Özelliklerin Analizi**

cry1Ab ve *cp4 epsps* genlerini içeren GD MON810xNK603 melez mısır çeşidi ile GD olmayan eşdeğeri arasında morfolojik, büyüme, dormansi özellikleri, erken dönemde dona tolerans, polen boyutu ve dölllenme kabiliyeti, tohum üretimi gibi özellikler bakımından bir fark olmadığı saptanmıştır (JBCH 2004, PDA 2005, U.K. ACRE, 2004, EFSA 2003).

Sonuç olarak; Bilimsel Komite, GD MON810xNK603 mısır çeşidinin yukarıda belirtilen besin içeriği, kimyasal kompozisyonu ve tarımsal özellikleri açısından, genetik olarak değiştirilmemiş çeşitlerle benzer olduğu sonucuna varmıştır.

Toksisite Değerlendirilmesi

GD NK603

GD Roundup Ready NK603 Avrupa Birliği tarafından 2014 yılına kadar gıda ve yem katkısı üretmek üzere izin verilen ESPS enzimi değiştirilerek glifosat herbisitine tolerant hale getirilmiş mısır çeşididir. GD NK603 mısır çeşidi danelerinde 10-14 µg/g gibi çok düşük miktarda CP4 EPSPS proteini bulunmaktadır. EPSPS enzimi zaten bütün bitkilerde vardır, dolayısıyla CP4 EPSPS de onun kadar güvenli kabul

edilmektedir. Harrison ve ark (1996) saf EPSP proteinini gavaj yolu ile uyguladıkları farelerde 572 mg/kg gibi yüksek dozlarda bile herhangi bir toksik etki saptamamışlardır (Harrison ve ark 1996, Heck ve ark 2005). EFSA panelinde yapılan değerlendirme sonuçlarına göre de CP4 EPSPS proteininin güvenli olmadığına ilişkin bir veri bulunamamıştır (EFSA 2010).

Yemlerinde %11 ve %33 oranında GD NK 603 mısır çeşidi içeren rasyon ile beslenen dişi ve erkek sıçanlarda (28 ve 90 gün süreli) incelenen tüm parametreler (organ ağırlıkları, organ /vücut ağırlık oranları besin tüketimi, serum kimyası (ALP, ALT, BUN, CREA, Albumin, Glukoz ve mineraller) heamatolojik değerler (WBC, RBC, Hb, Ht vb) bakımından eşdeğeri kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan fark bulunamamıştır. Gros morfolojide herhangi bir fark bulunamamış fakat histopatolojik açıdan sadece %33 oranında GD mısır içeren yemi tüketen gruplarda karaciğerde minor değişiklikler saptanmıştır (Hammond ve ark 2004).

GA21 ve NK603 Roundup Ready GD mısır çeşitleri ile beslenen ineklerde yapılan bir çalışmada glifosata toleransı sağlayan genin besin kalitesi bakımından bir etkisi olmadığı gibi, eşdeğeri ile karşılaştırılan kontrol grubu arasında da toksikolojik bir fark bulunmamıştır (Erickson ve ark 2003).

CP4 EPSPS enziminin amino asit dizilimi incelendiğinde memelilerde hiçbir toksik ve alerjen protein ile homoloji göstermediği ve CP4 EPSPS proteininin insan ve hayvan tüketiminde güvenli olduğu bildirilmektedir (Richard ve ark 2005, Benachour ve ark 2007).

İki farklı Cry proteini ifade eden MON 810 ve MON 863 ile CP4 EPSPS proteini ifade eden GD NK 603 mısır çeşitleri ile %11 ve %33 oranda 5 ve 14 hafta süreyle beslenen sıçanların detoksifikasyon organları olan karaciğer ve böbrek ile ilişkili 60 ayrı biyokimyasal parametre serum ve idrarda ölçülmüştür. Karaciğer ve böbrek dokularında GD üç mısır çeşidinde ait istatistiksel olarak önemli olmayan farklılıklar saptanmıştır. Diğer yandan kalp, adrenal bezler, dalak ve haemopoietik sistemde bazı farklılıklar belirlenmiştir. Elde edilen veriler hepatorenal toksisiteyi işaret etmektedir. Bu durumun, genetiği değiştirilmiş her mısır çeşidinde ifade edilen proteinlerden ziyade pestisitlere bağlı olabileceği de belirtilmiştir (Vendomois ve ark 2009).

Domingo ve Bordonaba'nın (2011) derlediği yayında GD ticari 3 ayrı mısırla (NK603, MON810 ve MON863) beslenen sıçanlarda, kan ve organ parametrelerine bakılmıştır. Üç farklı GD mısır yemi tüketilmesine bağlı olarak değişkenlik göstermekle birlikte, cinsiyet ve sıklıkla da dozla ilişkili yeni yan etkiler gözlenmiştir. Olumsuz etkiler sıklıkla detoksifikasyon organları karaciğer ve böbrekle ilişkilidir. Ek olarak kalp, adrenal bezler, dalak ve hematopietik sistemde de etkiler gözlenmiştir. Bu verilerin, her bir GD mısırdaki olan özgül pestisidlere bağlı olduğu, hepato-renal toksisite bulgularını aydınlattığı sonucuna varılmıştır. Ayrıca, genetik modifikasyonun doğrudan ya da dolaylı istenmeyen metabolik sonuçları gözden ırak tutulamamaktadır. Günümüze kadar, bu çalışma bilimsel olarak irdelenmemiştir. GD diyetlerin istatistiksel olarak anlamlı etkileri veya pestisit kalıntıları içeren GD ürünler -

hepsinde olmamakla birlikte- daha önce de kimi çalışmalarda görülmüştür. Her olgu için ayrı yaklaşım ve toksikolojik çalışmalar çok sınırlıdır. Risk öngörüsünün, yalnızca her 2 cinsiyetten 40'ar sıçanda 90 günlük diyetle yapılmaya çalışıldığını görmek inanılır gibi değildir. Üstelik bu çalışmadan elde edilen sonuçlar istatistiksel anlamlılık sınırındadır ve daha uzun süreli bağımsız çalışmalarla yinelenmemiştir.

cp4 epsps geni, 455 amino asitten (47,6 kDa) oluşan tek bir polipeptiti kodlar ve analog bitki EPSPS enzimi analogu ile %50 oranında amino asit dizilim benzerliği gösterir. Bakteriyel ve bitkisel EPSPS proteini ailesinin herhangi bir alerjik veya toksik etki gösterdiği bilinmemektedir. CP4 EPSPS proteininin potansiyel toksisitesi, veri tabanında yer alan farelerde oral akut toksisitesi bilenen 4677 proteinin amino asit dizilimi ile ilişkili (hiçbiri birbirine benzemeyen) karşılaştırılarak değerlendirilmiş ve bir benzerlik bulunamamıştır. CP4 EPSPS proteini, bilinen protein toksinleri ile herhangi bir dizilim homolojisi göstermediği 400 mg/kg'a kadar CP4 EPSP proteini verilen, farelerde (50 dişi, 50 erkek) herhangi bir istenmeyen etkiye neden olmadığı saptanmıştır. CP4 EPSPS L214P proteininde tek bir amino asit değişimi, dizilim karşılaştırması sonucu değiştirmemiştir (Canadian Food Inspection Agency 2009).

Alerjenite Değerlendirmesi

CP4 EPSPS proteinini kodlayan gen, alerjik tepkilere neden olabilecek herhangi bir organizmadan elde edilmemiştir. Bu proteinin alerjik potansiyeli, bilinen alerjenleri içeren veri tabanları ile amino asit dizilimi karşılaştırılarak ileri düzeyde araştırılmıştır. Ayrıca sindirim sisteminde dayanıklılığı da, mide sıvısı benzeşim (simülasyon) ortamında incelenmiştir. Sekiz amino asit uzunluğunda peptit parçası kullanılarak 567 proteinden oluşan bir veri tabanı ile kontrol edildiğinde, CP4 EPSPS ile bilinen alerjenler arasında amino asit dizilim benzerliği olmadığı anlaşılmıştır. Western immunoblot analizlerinde öngörülüşü üzere, CP4 EPSPS protein, pepsin içeren mide sıvısı veya tripsin içeren bağırsak sıvısı benzeşim ortamında hızla parçalanmaktadır (T50 < 15 sn.). Benzer sonuçlar, CP4 EPSPS L214P ile de elde edilmiştir (Canadian Food Inspection Agency 2009)

GD MON810

GD MON810 mısır çeşidi EPSPS enzimi değiştirilerek herbisitlere tolerant ve cry protein geni aktararak lepidopterlere dayanıklı hale getirilmiştir. Bağımsız araştırmalar ve EFSA'nın yapmış olduğu değerlendirmelere göre GD MON810 mısırdaki ifade edilen Cry1Ab proteininin akut toksisitesinin olmadığı belirtilmiştir. Aynı şekilde sıçanlarla yapılan 90 günlük subkronik besleme çalışması da GD MON810 mısır çeşidinin tüketilmesiyle ters bir etki görülmemiştir. Bu nedenle, GD MON810'un güvenliğiyle ilgili bir endişeye gerek olmadığı bildirilmiştir. Etlik piliçlerle yapılan besleme çalışmalarında da GD MON810'un ters bir etki yapmadığı ve besleyici yönünün genetiği değiştirilmemiş benzerlerinden farklı olmadığı belirtilmiştir (EFSA 2006).

Paul ve ark (2010) tarafından yapılan bir çalışmada, GD MON810 mısırdaki ifade edilen rekombinant Cry1Ab proteininin süt ineklerinin sindirim kanalında bozulma ve parçalanmasını araştırmak için laktasyonda olan 36 adet Bavarian Feckvieh inek üzerinde 25 ay süren bir besleme çalışması yapılmıştır. Bu çalışmada inekler 2 gruba ayrılmış (her grupta 18 inek), bir gruba GD MON810 mısır, diğerine ise buna yakın özelliklere sahip genetiği değiştirilmemiş mısır içeren yem verilmiştir. Çalışmanın sonunda her gruptan 6 inek kesildikten sonra rumen, abomazum, ince bağırsak, kalın bağırsak ve sekum içeriği alınmıştır. Alınan örnekler ELISA ile Cry1Ab ve bisinkoninik asit analizi ile toplam protein yönünden analiz edilmiştir. Ayrıca yem, sindirim kanalı içeriği ve dışkılarıdaki Cry1Ab proteininin bütünlüğünü değerlendirmek için de immüno blot analizleri gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonunda dışkıda bulunan Cry1Ab protein konsantrasyonunun yemde bulunandan %44 oranında daha düşük olduğu kaydedilmiştir (yemde 9.40 ve dışkıda 4.18 µg/g toplam protein). Genetiği değiştirilmiş yemle beslenen ineklerin sindirim kanalı içeriğindeki Cry1Ab protein konsantrasyonunun en düşük abomazumda (0.38 µg/g toplam protein), en yüksek ise rumende (3.84 µg/g toplam protein) olduğu belirtilmiştir. Ayrıca immüno blot analizleriyle, rekombinant Cry1Ab proteininin sindirim kanalında yaklaşık 34 kDa'luk küçük parçalara bölündüğü ortaya konulmuştur. Bu çalışmanın sonuçları GD MON810 mısırdan gelen rekombinant Cry1Ab proteininin, süt sığırlarının sindirimi sırasında daha küçük parçalara ayrıldığını göstermiştir.

Finamore ve ark (2008) tarafından yapılan bir çalışmada farelerin (erkek Balb/c) izole organlarında GD MON810 mısıra karşı bağırsak ve çevresel immün yanıtlar değerlendirilmiştir. Bunun için süttten yeni kesilmiş (21 günlük) ve yaşlı fareler (18 - 19 aylık) GD MON810 mısır, bunun ana hattı genetiği değiştirilmemiş kontrol mısırı içeren bir yemle ve GD mısır içermeyen bir pelet yemle 30 ve 90 gün beslenmişlerdir. Yemler standart yeme göre formüle edilmiş ve %50 oranında GD MON810 veya eşdeğeri GD olmayan mısır çeşidi içermiştir. Standart pelet yem ise %50 oranında GD olmayan ticari mısır içermektedir. Pelet yemde Cry1Ab gen analizi PCR ile yapılmış ve bu geni içermediği doğrulanmıştır. Yemler süttten kesilmiş farelere 30 ve 90 gün verilmiş, yaşlı farelere ise sadece 30 günlük besleme çalışması yapılmıştır. Deney sonunda farelerden alınan kalp kanı, dalak ve ince bağırsak doku örnekleri incelenmiştir. Gruplar arasında ortalama vücut ağırlığı ile yem tüketimi ve dalak lenfositlerinin çoğalmasında anlamlı farklılık görülmemiştir. Kontrol mısırı tüketen farelerin bağırsak içi epiteli, dalak ve kandaki lenfositlerinin immün fenotipi peletle beslenen farelerinkiyle benzer bulunmuş, ancak GD MON810 mısırla beslenen farelerin bağırsak içi T ve B hücreleri ile diğer bazı hücrelerin oranında farklılıklar bulunmuştur. GD MON 810 ile beslenen farelerin serum sitokin düzeylerinin de artış gösterdiği tespit edilmiştir. Araştırmacılar, elde edilen verilerin bağışıklık sistemini önemli düzeyde bozup bozmayacağını değerlendirmek için daha ileri araştırmaların yapılmasının gerektiği vurgulanmaktadır. Ayrıca bu çalışmada, GD ürünlerin güvenlik değerlendirmelerinde bitkinin bütünüün yenmesi durumunda, bağırsak ve sistemik bağışıklık yanıtının değerlendirilmesinin önemli olacağına dikkat çekmişlerdir.

GD ürünlerle yapılan hayvan besleme deneyleri genellikle kısa sürelidir ve üreme sistemine ilişkin etkiler fazla incelenmemiştir. Velimirov ve ark (2008), çalışmalarında,

% 33 oranında GD NK603xMON810 mısır içeren yemle ana-baba fareler ardışık 4 farklı yavru döneminde beslenmiştir. Kontrol grubu olarak da GD olmayan mısırla beslenen fareler eş koşullarda yetiştirilmişlerdir. GD mısır ile beslenen farelerde, deney koşullarında üreme sisteminde negatif etkilerin ortaya çıktığı ileri sürülmektedir. Sürekli olarak GD mısır çeşidinden hazırlanan yemle ile GD mısır ile beslenen ardışık 3. ve 4. yavrulama dönemindeki farelerde, GD olmayan yemle beslenenlere göre beden ağırlığında anlamlı azalma olmamakla birlikte; organ ve ince yapısal (ultrastrüktürel) mikroskopik incelemelerde hücre düzeyinde değişiklikler gözlenmiştir. GD mısır ile beslenen farelerde, GD olmayan yem alanlara göre doğurganlık (fertilite) ve yavru ağırlığı azaldığı gibi, süt miktarı ve emzirme süresi de azalmıştır. Kontrol grubunda ise yavru ölümlerinde artma saptanmıştır.

Rapor olarak sunulan ve yeterli istatistiksel analizlerle desteklenmeyen bu araştırmanın sonuçlarının güvenilirliği konusunda kuşku bulunmaktadır. Gelecekte, GD ürünlerle hayvan beslenmenin güvenli olup olmayacağına ilişkin karar vermede, üreme sistemi verilerinin de dikkate alınması gerekecektir. Fizyolojik ve genetik özelliklerin, GD ürünlerin hayvan organizmalarında proteomik ve metabolomik etkilerine bağlıdır.

Kadlec ve ark (2009) tarafından yapılan bir çalışmada genetiği değiştirilmiş olan insektisit proteini *Cry1Ab* geni içeren GD MON810 mısır ile genetiği değiştirilmemiş benzerlerinin, ROSS 308 ırkı etlik piliçlerin büyüme, hematolojik ve biyokimyasal değerleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Her grupta 100 tavuk, %30-35 mısır içeren yem ile 42 gün boyunca beslenmişlerdir. Deney ve kontrol gruplarının yem içerikleri ve beslenme kompozisyonu aynı tutulmuştur. Sonuçta, hematolojik ve biyokimyasal parametreler ile kesim ağırlıkları yönünden gruplar arasında farklılık görülmediği bildirilmiştir. Benzer bir çalışma, Rehout ve ark (2009) tarafından insektisit proteini *Cry1Ab* geni içeren GD MON810 mısırının ROSS 308 ırkı etlik piliçlerin kesim özellikleri, biyokimyasal ve hematolojik parametrelerinde bir etki yapmayacağına belirlenmesi amaçlanmıştır. 42 günlük besleme dönemi sonunda piliçler 1.8 - 2.0 kg canlı ağırlığa erişmiş ve kontrol gruplarıyla aralarında farklılık görülmemiştir. Piliçlerin kesim özellikleri, hematolojik ve biyokimyasal olarak ölçülen parametrelerinin hiçbirinde olumsuzluk görülmemiş, biyokimyasal ve hematolojik parametrelerinin de fizyolojik sınırlarda bulunduğu kaydedilmiştir.

Alerjenite Değerlendirmesi

Adel-Patient ve ark (2011) tarafından yapılan çalışmada farelere, saflaştırılmış veya GD MON810 mısırdaki ifade edilen *Cry1Ab* protein verilerek immunolojik ve metabolik etkileri araştırılmıştır. Saf *Cry1Ab* proteininin BALB/c farelere mide içi veya periton içi uygulanması ile oluşan humoral ve hücreli immünite yanıtları analiz edilmiş ve farklı immünogenik ve alerjen proteinlerle karşılaştırılmıştır. Mısır doğal alerjenlerinin ifade edilme modelindeki genetik modifikasyonun olası istenmeyen etkileri IgE-immünoblot ve mısıra alerjik hastalardan alınan serumlar kullanılarak çalışılmıştır. Fareler, genetiği değiştirilmiş mısır veya genetiği değiştirilmemiş mısırdan alınan protein ekstraktlarıyla mide içi veya periton içi deneysel olarak duyarlı hale getirilmişler ve

sonra immün yanıtı oluşturan anti-mısır proteinleri ve anti-Cry1Ab proteini incelenmiştir. Buna paralel olarak metabolik çalışmalar mide içi yolla protein verilen farelerin idrarında gerçekleştirilmiştir. Farklı proteinlerin mide içi uygulamasıyla zayıf immün yanıtlar alınmıştır. Bilinen alerjik proteinler periton içi verildiğinde belirgin bir Th2 yanıtı alınmasına rağmen, alerjik olduğu bilinmeyen immunogenik proteinlerle ve Cry1Ab ile karışık Th1/Th2 yanıtı alınmıştır. Bu durum allerjeneden çok proteinin, Th2'ye eğilimli ırk olan BALB/c farelerinin immünojenitesini yansıtmaktadır. Böylece GD MON810 ile genetiği değiştirilmemiş benzeri arasında doğal mısır alerjenleri profilinde farklılık görülmemiştir. Mısır proteinlerine karşı görülen immün yanıtların GD MON810 ve genetiği değiştirilmemiş benzeri verilen farelerde kantitatif olarak eşdeğer olduğu ve MON810 verilen farelerde anti-Cry1Ab-spesifik immün yanıt belirlenmediği rapor edilmiştir. Çalışmadan elde edilen bulgular saf Cry1Ab proteininin alerjik yanıtlara neden olmadığını doğrulamaktadır. İmmünolojik ve metabolik çalışmalar, GD MON810 veya genetiği değiştirilmemiş benzerinin mide içi uygulamasıyla fare metabolik profilinde hafif farklılıklar ortaya koymasına rağmen, immün yanıt üzerine genetik modifikasyonun olumsuz etkisi olmadığını göstermiştir.

Schrader ve ark (2008) tarafından yapılan bir çalışmada MON810 mısırdaki bulunan Cry1Ab proteininin insektisit etkisi, toprak mikroorganizmaları olan 2 yer solucanı (*Lumbricus terrestris*, *Aporrectodea caliginosa*) üzerinde denenmiştir. Sonuçta solucanların mısırdan gelen Cry1Ab proteinlerinin immün yanıt yeteneğini düşürdüğü ortaya konulmuştur.

Guertler ve ark (2010) tarafından yapılan çalışmada, süt sığırlarında yemin metabolik sindirimi sırasında transgenik Cry1Ab proteininin davranışını ve kan, idrar, süt, dışkıya olası geçişini araştırmak amaçlanmıştır. Bunun için 36 Simmental inek 2 gruba ayrılmış (her grupta 18 inek) bir gruba GD MON810 mısır içeren yemle, kontrol grubu ise genetiği değiştirilmemiş benzeri özelliğe sahip mısır içeren yemle 25 ay boyunca beslenmişlerdir. Her iki mısır çeşidinin beslenme ve enerji içeriği birbirine yakın ve yem şartları da eşdeğer tutulmuştur. Yem örnekleri haftalık; dışkı, kan ve süt örnekleri aylık; idrar örnekleri 2 ayda bir toplanmıştır. Bütün örnekler PCR (dışkı, kan ve idrar) ve kantitatif eş-zamanlı PCR (yem, süt) ile Cry1Ab yönünden analiz edilmişlerdir. İmmünoreaktif Cry1Ab proteinini belirlemek için optimize edilmiş duyarlı ve oldukça spesifik ELISA yönteminin kullanıldığı çalışmada, genetiği değiştirilmemiş yem örneklerinde rekombinant DNA bulunmamış ve protein miktarı belirlenme sınırları içinde olup, buna karşın genetiği değiştirilmiş yem örneklerinde hem 206 bp'lik *cry1Ab* parçası hem de immünoreaktif Cry1Ab proteinin parçalarının bulunduğu bildirilmiştir. Ancak hiçbir kan, süt veya idrar örneğinde rekombinant DNA ve protein bulunmadığı rapor edilmiştir. Cry1Ab geni de hiçbir dışkı örneğinde bulunmamış, ancak immünoreaktif Cry1Ab protein parçaları genetiği değiştirilmiş yemle beslenen bütün ineklerin dışkılarında saptanmıştır. Sonuç olarak 25 ay boyunca genetiği değiştirilmiş mısırla beslenen süt sığırlarının sütünün, genetiği değiştirilmemiş mısırla beslenen ineklerin sütünden farklılık göstermediği bildirilmiştir.

Sonuç olarak; GD NK603xMON810 melez mısır çeşidinin içerdiği Cry 1Ab geni ve proteini ile CP4 epsps geni ve proteini ile yapılan çalışmalarda hem NK603 hem de

MON 810 mısır çeşidlerinin toksik ve allerjik protein ve amino asit içermediği ancak pestisit kaynaklı karaciğer ve böbrekte bazı olumsuz değişiklikler bildirilmekle birlikte, NK603xMON810 melez türün yem amaçlı tüketilmesinde önemli bir sorun yaratmayacağı kanısı oluşmuştur.

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).

GD NK603xMON810 mısır çeşidi GD MON810 ve NK603 mısır çeşitlerinin çaprazlanması ile geliştirilmiştir. CP4 EPSPS ve Cry1Ab proteinlerini ifade ederek glifosat içerikli herbisitlere ve bazı Lepidoptera takımındaki böcek türlerine (*Ostrinia nubilalis*, *Sesamia* spp.) karşı dayanıklılık gösteren melez mısır çeşitidir (EFSA 2006).

GD NK603xMON810 melezinin GD olmayan eşdeğer mısır çeşitleri ile aynı özellikleri taşıdığı saptanmıştır (EC 2003). Tarla denemeleri, GD MON810 ve NK603 mısır çeşitlerinin, kaynağı olan genetik olarak değiştirilmemiş mısır çeşidi ile hayatta kalma, üreme ve yayılma özellikleri bakımından, Lepidoptera takımındaki böcek türlerine dayanıklılık, glifosat herbisiti uygulaması dışında, herhangi bir fark göstermediği bulunmuştur (EFSA 2003, 2005, CERA 2009). GD MON810xNK603 mısır çeşidi morfolojik ve büyüme özellikleri bakımından kendi anaç hatlarından ve genetik olarak değiştirilmemiş mısırdan bir fark bulunmamıştır (CERA 2009).

Sonuç olarak; Bilimsel Komite, MON810xNK603 mısır çeşidinin, çevreye yayılma potansiyeli yönünden genetik olarak değiştirilmemiş eşdeğeriyle benzer olduğu sonucuna varmıştır.

• Bitkiden bitkiye gen kaçışı

Mısır yabancı döllen bir bitki olup, polenler rüzgârla çevreye taşınabilmektedir (Treu ve Emberlin 2000). Ancak yem amaçlı olarak GD MON810xNK603 çeşitlerinin ülkemize girişi bitkiden bitkiye gen kaçışının kaza ile çevreye yayılması ile mümkün olabilir (Nishizawa ve ark 2009).

Kültürü yapılan mısır çeşitlerinin ülkemizde yaygın olarak üretilmesi nedeniyle GD MON810xNK603 mısır çeşidinden yabancı türlere ve kültür çeşitlerine gen kaçışı olasılığının bulunacağını göstermektedir (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. Bu nedenle, GD MON810xNK603 mısır çeşidine ait tohum veya polen yayılması sonucu çevresel risk olabileceği düşünülmektedir (UK. ACRE 2004).

- **Bitkiden bakteriye gen kaçıışı**

Genetik olarak değiştirilmiş MON810xNK603 mısır çeşidinden üretilen besin ve yemlerde bulunan trans-genlerin, insan ve hayvanların sindirim sistemlerinde ve doğada bulunan mikroorganizmalarla karşılaşma riski bulunmaktadır. Bitki DNA'sı memelilerin sindirim siteminde büyük oranda ve hızla parçalanmasına karşın, kalın bağırsakta ve serumda DNA parçalarına rastlanabilmektedir (Eede ve ark 2004, Agodi ve ark 2006). Öte yandan bu gen parçalarının prokaryot genomuyla birleşme olasılığının doğada rastlanılandan daha fazla olmadığı belirtilmektedir (Nielsen 1998, Keese 2008, EFSA 2005).

Ayrıca, GD MON810xNK603 mısır çeşidinde antibiyotiklere karşı direnç genlerinin bulunmaması ve aktarılan genlerinin ökaryotik hücrelerden prokaryotlara geçişi mümkün gözükmemektedir (Eede ve ark 2004, EFSA 2005, FSANZ 2003).

Sonuç olarak; GD MON810xNK603 mısır çeşidi ülkemizde yem amaçlı kullanılacağı ve üretimi yapılmayacağından, kazayla oluşabilecek yayılmalar sonucu gelişen bitkilerden, kültürü yapılan mısır çeşitlerine gen kaçışının 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 NK603xMON810** mısır çeşidinin yem olarak kullanım amacıyla ithal edilmesinin risklerini değerlendirmiştir. NK603xMON810 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 görüşleri (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 yem olarak kullanımı sonucu ortaya çıkabilecek riskler değerlendirilmiştir. Ek olarak bu mısır çeşidinin ülkemizde kazayla yayılması durumunda oluşabilecek tarımsal ve çevresel riskler de göz önünde bulundurulmuştur.

Karşılaştırmalı analizler ile **GD NK603xMON810** 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 NK603xMON810** mısır çeşidinin kazayla çevreye yayılması durumunda, geleneksel çeşitlerden farklı bir çevresel etkinin oluşması olasılığının da çok düşük olduğu sonucuna varılmıştır.

Erişilebilen bu bilgiler ışığında, Bilimsel Risk Değerlendirme Komitesi, **GD NK603xMON810** mısır danesinin '**yem olarak**' kullanılmasının, insan, hayvan ve çevre açısından istenmeyen etkilerinin, genetiği değiştirilmemiş eşdeğer çeşitten farklı olmayabileceği kanısına varmıştır.

Bilimsel komite, Lepidopter mısır kurtlarına dayanıklılığı sağlayan *B. thuringiensis kurstaki* kökenli **cry1Ab** ve *Agrobacterium tumefaciens*'den izole edilen ve **glifosat** herbisitine toleransı sağlayan **cp4 epsps** genleri ile proteinlerini içeren **GD NK603xMON810** mısır çeşidinin '**yem olarak**' kullanılmasının uygun olabileceği 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 (Heinemann, 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 NK603xMON810** 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 NK603xMON810** 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

Adel-Patient K, Guimaraes VD, Paris A, Drumare M-F, Ah-Leung S, Lamourette P, Nevers MC, Canlet C, Molina J, Bernard H, Creminon C, Wal JM, 2011. Immunological and Metabolomic Impacts of Administration of Cry1Ab Protein and MON 810 Maize in Mouse. PLoS ONE 6 (1): e16346. doi:10.1371/journal.pone.0016346.

Agodi A, Barchitta M, Grillo A, Sciacca S, 2006. Detection of genetically modified DNA sequences in milk from The Italian market. Int. J. Hyg. Environ.- Health 209: 81-88.

Bakke-McKellep AM, Sanden M, Danieli, A, Acierno, R, Hemre GI, Maffia M, Kroghdahl, A. 2008. Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr fed genetically modified soybeans and maize: Histological, digestive, metabolic, and immunological investigations. Research in Veterinary Science, 84: 395-408.

Benachour N, Sipahutar H, Moslemi S, Gasnier C, Travert C, Séralini GE, 2007. Time and dosedependent effects of Roundup on human embryonic and placental cells and aromatase inhibition. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 53:126-133.

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

CERA, 2009. Outline of the Biological Diversity Risk Assessment Report: Type 1 Use for DAS-01507-1 x MON-00603-6 insect resistant and herbicide tolerant maize. Japanese Biosafety Clearing House, (JBCH) Ministry of Environment, Tokyo, Japan. http://cera-gmc.org/index.php?action=gm_crop_database&mode=ShowProd&data=TC1507xNK603

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

Donkin SS, Velez JC, Totten AK, Stanisiewski EP, Hartnell GF. 2003. Effects of Feeding Silage and Grain from Glyphosate-Tolerant or Insect-Protected Corn Hybrids on Feed Intake, Ruminant Digestion, and Milk Production in Dairy Cattle. Journal of Dairy Science, 86(5): 1780-1788.

Eede G, van den Aarts H, Buhk HJ, Corthier G, Flint HJ, 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.

EFSA, 2003. 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, 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, 2006. Opinion of the European Food Safety Authority in accordance with Articles 6 and 18 of Regulation (EC) No 1829/2003 on application EFSA-GMO-UK-2004-05 Application for the placing on the market of insect-protected, glufosinate and glyphosate-tolerant genetically modified maize 1507 x NK603 for food and feed uses from Pioneer Hi-Bred and Mycogen Seeds (Question No EFSA-Q-2004-139).

EFSA, 2009. Opinion of the Scientific Panel on 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, 1-84.

EFSA Panel Report 2010. *EFSA journal* 2010, 8(3), 1564.

Erickson GE, Robins ND, Simon JJ, Berger LL, Klopfenstein TJ, Stanisiewski EP, Hartnell GF, 2003. Effect of feeding glyphosate-tolerant (Roundup –Ready events GA21 or nk603) corn compared with reference hybrids on feedlot steer performance and carcass characteristics. *J. Anim. Sci.*, 81, 2600-2608.

Esteve-Garcia E, Llauro L, 1997. Performance, breast meat yield, and abdominal fat deposition of male broiler chickens fed diets supplemented with DL-methionine or DL-methionine hydroxy analogue free acid. *Br. Poult. Sci.*, 38, 397-404.

Farran MT, Khalil RF, Uwayjan MG, Ashkarian VM, 2000. Performance and carcass quality of commercial broiler strains. *J. Appl. Poult. Res.*, 9, 252-257.

Finamore A, Roselli M, Britti S, Monastra G, Ambra R, Turrini A, Mengheri E, 2008. Intestinal and Peripheral Immune Response to MON810 Maize Ingestion in Weaning and Old Mice. *J. Agric. Food Chem*, 56:11533–11539.

Food Standards Australia New Zealand (FSANZ), 2003. Insect protected and glufosinate ammonium-tolerant corn line 1507. <http://www.inspection.gc.ca/english/plaveg/bio/dd/dd0241e.shtml>

Grant RJ, Fanning KC, Kleinschmit D, Stanisiewski EP, Hartnell GF, 2003. Influence of glyphosate-tolerant (event nk603) and corn rootworm protected (event MON863) corn silage and grain on feed consumption and milk production in Holstein cattle. *J. Dairy Sci.* 86, 1707-1715.

Grey TC, Robinson D, Jones JM, Stock SW, Thomas NL, 1983. Effect of age and sex on the composition of muscle and skin from a commercial broiler strain. *Brit. Poult. Sci.* 24: 219-231.

Guertler P, Paul V, Steinke K, Wiedemann S, Preißinger W, Albrecht C, Spiekers H, Schwarz FJ, Heinrich HD, Meyer, HHD, 2010. Long-term feeding of genetically modified corn (MON810)- Fate of

cry1Ab DNA and recombinant protein during the metabolism of the dairy cow. *Livestock Science*, 131, 250–259.

Hammond B, Dudek R, Lemen J, Nemeth M, 2004. Results of a 13 week safety assurance study with rats fed grain from glyphosate tolerant corn. *Food and Chemical Toxicology* 42: 1003–1014.

Hammond BG, Dudek R, Lemen JK, Nemeth MA, 2006. Results of a 90-day safety assurance study with rats fed grain from corn borer-protected corn. *Food Chem Toxicol.* 44(7):1092-1099.

Harrison BD, Liu YL, Zhou X, Robinson DJ, Calvert L, Otim-Nape GW, 1996. Properties, differentiation and geographical distribution of geminiviruses that cause cassava mosaic. In Abstracts of the Third International Meeting, Cassava Biotechnology Network (CBN III), 26±31 August 1996, Kampala, Uganda, p. 16.

Heck G, Armstrong C, Astwood J, Behr C, Bookout J, Brown S, Cavato T, deBoer D, Deng M, George C, Hillyard J et al. 2005. Development and characterization of a CP4 EPSPS-based glyphosate-tolerant Corn Event. *Crop Science*, 45 (1): 329-339.

Heinemenn JA, 2009. Report on animal exposed to GM ingredients in animal feed. Prepared for the Commerce Commission of New Zealand.

Ipharraguerre IR, Younker RS, Clark JH, Stanisiewski EP, Hartnell GF, 2003. Performance of lactating dairy cows fed corn as whole plant silage and grain produced from a glyphosate-tolerant hybrid (event NK603). *J. Dairy Sci.*, 86, 1734-1741.

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

Japanese Biosafety Clearing House (JBCH), 2004. Outline of the biological diversity risk assessment report: Type 1 use approval for maize MON810 and NK 603. Japan Biosafety Clearing House (BCH). Tokyo, Japan.

Kadlec J, Rehout V, Citek J, Hanusova L, Hosnedlova B, 2009. The influence of GM Bt maize MON 810 and RR soya in feed mixtures upon slaughter, haematological and biochemical indicators of broiler chickens. *Journal of Agrobiolgy*, 26 (1): 51-55.

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

Kidd MT, Kerr BJ, 1997. Threonine responses in commercial broilers at 30 to 42 days. *J. Appl. Poult. Res.*, 6, 362-367.

Lei S, Van Beek G, 1997. Influence of activity and dietary energy on broiler performance, carcass yield and sensory quality. *Br. Poult. Sci.*, 38, 183-189.

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

Lucas DM, Taylor ML, Hartnell GF, Nemeth MA, Glenn KC, Davis SW, 2007. Broiler Performance and Carcass Characteristics When Fed Diets Containing Lysine Maize (LY038 or LY038 MON 810), Control, or Conventional Reference Maize. *Poultry Science*, 86: 2152-2161.

Nielsen K M, Bones A. M. Smalla K, Elsas J D 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.

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 Kıraç Tarım Kongresi ve Fuarı 27-30 Nisan 2011, Eskişehir. Cilt 1: 75-82.

Paul V, Guertler P, Wiedemann S, Meyer HHD, 2010. Degradation of Cry1Ab protein from genetically modified maize (MON810) in relation to total dietary feed proteins in dairy cow digestion. *Transgenic Res*, 19: 683–689

Paul V, Kerstin S, Heinrich HDM 2007. Development and validation of a sensitive enzyme immunoassay for surveillance of Cry1Ab toxin in bovine blood plasma of cows fed Bt-maize (MON810). *Analytica Chimica* 607: 106-113.

Philippines Department of Agriculture, Bureau of Plant Industry (PDA), 2005. Determination of the Safety of Monsanto's Combined trait product corn: MON 810 x NK 603 for Direct Use as Food, Feed, and Processing and for Propagation

Peak SD, Walsh TJ, Benton CE, Brake J, 2000. Effects of two planes of nutrition on performance and uniformity of four strains of broiler chicks. *J. Appl. Poult. Res.*, 9, 185- 194.

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

Rehout V, Kadlec J, Cítek J, Hradecka E, Hanusova L, Hosnedlova B Lad F, 2009. The influence of genetically modified Bt maize MON 810 in feed mixtures on slaughter, haematological and biochemical indices of broiler chickens. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 18, 2009, 490–498.

Richard, S., Moslemi, S., Sipahutar, H., Benachour, N., Seralini, G.E., 2005. Differential effects of glyphosate and roundup on human placental cells and aromatase. *Environ. Health Perspect.*, 113:716-720.

Rossi F, Morlacchini M, Fusconi G, Pietri A, Piva G 2011. Effect of insertion of Bt gene in corn and different fumonisin content on growth performance of weaned piglets. *Italian Journal of Animal Sciences*. 10: 95-100.

Sadashivappa P, Qaim M, 2009. Effects of Bt cotton in India during the first five years of adoption. International Association of Agricultural Economists' 2009 Conference, Beijing, China, August 16-22.

Sagstad A, Sanden M, Haugland Q, Hansen AC, Olsvik PA ve Hemre GI 2007. Evaluation of stress- and immune-response biomarkers in Atlantic salmon, *Salmo 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

Schrader S, Munchenberg T, Baumgarte S, Tebbe CC, 2008. Earthworms of different functional groups affect the fate of the Bt-toxin Cry1Ab from transgenic maize in soil. *European Journal of Soil Biology*, 44, 283-289.

Smith ER, Pesti GM, Kakalli RI, Ware GO, Menten JFM, 1998. Further experiments on the influence of genotype and dietary protein on the performance of broilers. *Poult. Sci.*, 77, 1678-1687.

Steinke K, Guertler P, Paul V, Wiedemann S, Etle T, Albrecht C, Meyer HHD ve Spiekers H. 2010. Effects of long-term feeding of genetically modified corn (event MON810) on the performance of lactating dairy cows. *Animal Physiology and Animal Nutrition*. 94:185-193.

Taylor ML, Hartnell GF, Riordan SG, Nemeth MA, Karunanandaa K, George B, Astwood JD. 2003. Comparison of broiler performance when fed diets containing grain from YieldGard (MON810), YieldGard x Roundup Ready (GA21), nontransgenic control, or commercial corn. *Poultry Science*, 82(5):823-830.

U.K. Advisory Committee on Releases to the Environment, 2004. Advice on a notification for marketing for herbicide tolerant and insect resistant GM hybrid maize (MON810 x NK603).

Velimirov A, Binter C, Zentek J, Herzog U, 2008. Biological effects of transgenic maize NK603xMON810 fed in long term reproduction studies in mice. Report, in *Forschungsberichte der Sektion IV Band 3/2008*.

Vendômois JS, Roullier F, Cellier D, Séralini GE 2009. A Comparison of the Effects of Three GM Corn Varieties on Mammalian Health. *International Journal of Biological Sciences*. 5(7): 706-726

William PR, Ravinder SS, Paul DP, Margaret AN, Matthew LB, James DA, 2002. Comparison of the Nutritional Profile of Glyphosate-Tolerant Corn Event NK603 with That of Conventional Corn (*Zea mays* L.) *J. Agric. Food Chem*. 50, 7235-724.