

YEM AMAÇLI KULLANILMAK İSTENEN GENETİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ 59122xNK603 MISIR ÇEŞİDİ VE ÜRÜNLERİ İÇİN BİLİMSEL RİSK DEĞERLENDİRME RAPORU

RAPORUN HAZIRLANIŞ GEREKÇESİ VE DAYANAKLARI

Bu rapor, genetik olarak değiştirilmiş 59122xNK603 mısır çeşidi ve ürünlerinin **(59122xNK603 mısırdan oluşan, içeren veya üretilen ürünler)** yem amaçlı kullanımı için, 5977 sayılı Biyogüvenlik Kanunu ve ilgili yönetmelik uyarınca Biyogüvenlik Kurulunun 03.03.2011 tarih ve 6 nolu toplantı kararı ile oluşturulan ve bu doğrultuda görevlendirilen Bilimsel Risk Değerlendirme Komitesi tarafından hazırlanmıştır. Raporun hazırlanmasında, Biyogüvenlik Kanunu ve bu kanunun uygulanması ile ilgili yönetmelikler, Rio Bildirgesi, Cartagena Biyogüvenlik Protokolü ve ilgili AB direktifleri gibi ulusal ve uluslararası düzenlemeler dikkate alınmıştır.

Rapor hazırlanırken 59122xNK603 mısır çeşidi ile ilgili ithalatçı firma tarafından dosyada sunulan belgeler, risk değerlendirmesi yapan muhtelif kuruluşların (EFSA, WHO, FAO, FDA, OECD) görüşleri ve bilimsel araştırmaların sonuçları ile farklı ülkelerde üretim ve tüketim durumları göz önünde bulundurulmuştur.

İTHALATÇI KURULUŞLAR:

- Türkiye Yem Sanayicileri Birliği Derneği İktisadi İşletmesi
- Beyaz Et Sanayicileri ve Damızlıkçılar Birliği (BESD-BİR)
- Yumurta Üreticileri Merkez Birliği (YUM-BİR)

ÇEŞİDİ GELİŞTİREN ve ÜRETEN KURULUŞ:

Pioneer Hi-Bred International
7100 NW 62nd Avenue
P.O.Box 1014
Johnston, IA 50131- 1014 USA

ÇEŞİDİN GELİŞTİRİLMESİ AMACI:

Transgenik 59122xNK603 melez mısır çeşidinin geliştirilmesinde temel amaç, yem olarak kullanım özelliklerini değiştirmeden tarımsal potansiyelini artırmaktır. Üretici firma bu yeni çeşidi hem glifosat ve glifosinat amonyum herbisitlerine tolerans, hem de Coleoptera takımında yer alan hedef zararlı türlere dayanıklılık amacıyla geliştirmiştir.

RİSK ANALİZİ VE DEĞERLENDİRMESİ:

59122xNK603 transgenik mısır çeşidi ve ürünlerine ait bilimsel risk analiz ve değerlendirilmesi, bu çeşidin geliştirilmesinde kullanılan gen aktarım yöntemleri, aktarılan genlerin moleküler karakterizasyonu ve ürettiği protein, besin değeri, olası alerjik, toksik ve çevreye gen kaçışı ile oluşabilecek riskler dikkate alınarak yapılmıştır.

Bu çeşitle ilgili bilimsel risk değerlendirilmesi yapılırken, çeşitle ilgili ithalatçı firma/firmalar tarafından başvuru dosyalarında sunulan belgeler, risk değerlendirilmesi yapan kuruluşların (EFSA, WHO, FAO, FDA) raporları ve bilimsel araştırmaların sonuçları (alerjik ve toksik etki analizleri, genetik modifikasyonun stabilitesi, morfolojik ve agronomik özellikler, hedef dışı

organizmalara etkisi vb.) ile farklı ülkelerde üretim ve tüketim durumları göz önünde bulundurulmuştur. 59122xNK603 mısır çeşidi ile 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.

1. Moleküler Genetik Yapı Karakterizasyonu

1.1. Aktarılan genleri taşıyan vektörlerin yapısı ve gen aktarım yöntemi

59122xNK603 transgenik mısır çeşidinin elde edilmesinde, geleneksel ıslah metodları kullanılmıştır. 59122xNK603 mısır çeşidine aktarılan iki bölge birbirinden bağımsız iki çeşit (59122 ve NK603) mısır hattından türetilmiştir. 59122xNK603 mısır çeşidinde; 59122 mısır çeşidi böceklerle karşı koruma sağlayan ve glufosinat tolerans özelliklerine, NK603 mısır çeşidi ise glifosat toleransı özelliklerine sahiptir.

59122

59122 mısır çeşidi, *Agrobacterium* bakterisi aracılığı ile transforme edilmiştir. Bu çeşitte, mısır kök kurduna direnç sağlayan *Bacillus thuringiensis* PS149B1 suşunun *cry34Ab1* ve *cry35Ab1* genleri ifade edilmekte ve ayrıca glufosinat herbisitine tolerans sağlayan *Streptomyces viridochromogenes*'in *pat* genini içeren baz dizisi de bulunmaktadır. Moleküler karakterizasyon çalışmaları, transgenik 59122 mısır çeşidine aktarılmış tek bir T-DNA bölgesi bulunduğunu ortaya koymuştur. Southern analizi ve DNA dizileme çalışmaları ile 59122 mısır çeşidine aktarılmış bölgenin yapısı analiz edilmiş olup, vektöre ait baz dizilerine rastlanmamıştır. BLASTn ve BLASTx analizleri, 59122 mısır çeşidine aktarılan DNA'nın mısır pentatrikoptid tekrar (repeat-PRP) proteinini kodlayan bölgenin (boş perikarp4 (*emp4*))1032 bç aşağısına eklendiğini göstermiştir. Bu PRP proteini mısırdaki tohum gelişmesi için gerekli bir bölgedir. Ancak, 59122 mısır çeşidinde tohum gelişiminin etkilenmemesi, *emp4* ekspresyonunun bu DNA aktarımı ile değişmediğini düşündürmüştür (EFSA, 2008). Biyoinformatik analizlerde, iki bağlantı bölgesinin uzantılarındaki açık okuma çerçeve dizileri (ORF-open reading frame) ile bilinen toksin veya alerjen dizileri arasında benzerlik bulunmamıştır. Southern analizleri fenotipin korunduğunu, genetik ve fenotipik kararlılığının 4 nesilden fazla olduğunu göstermiştir.

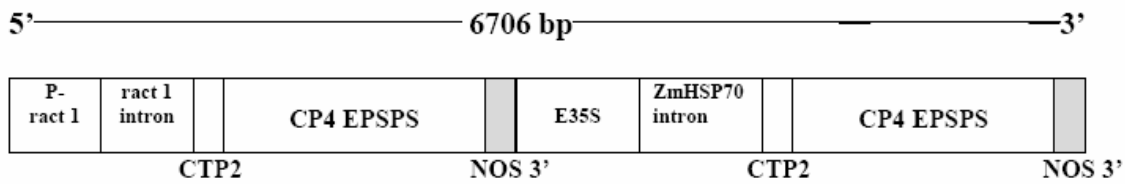
NK603

NK603 mısır çeşidi, PV-ZMGT32 plazmit vektöründen izole edilmiş, aşağıda ayrıntıları verilmiş DNA parçasının partikül bombardımanı yöntemi ile mısır bitkisine aktarılması sonucu oluşturulmuştur. Yapılan gen aktarımı ile *Agrobacterium* sp. CP4 suşunun glifosat tolerant 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) proteinini (CP4 EPSPS) kodlayan genin ekspresyonu sağlanmış ve glifosat herbisitine tolerant NK603 mısır çeşidi elde edilmiştir (EFSA, 2008; 2009).

PV-ZMGT32 plazmit vektörü *nptII* (prokaryotik T5 transpozonundan elde edilen, kanamisin direnç genini kodlayan) seçici markör gen ve replikasyon orijini (*ori*) bölgelerini içermektedir. Ancak bu plazmit *MluI* kesim enzimi ile *nptII* ve *ori* bölgeleri dışarıda kalacak şekilde kesilerek, yalnızca PV-ZMGT32L olarak isimlendirilen DNA parçası mısır hücrelerine aktarılmıştır. Moleküler analizler, NK603 mısır çeşidine aktarılmış tek bir DNA bölgesi içerdiğini göstermiştir. Bu bölge, birbirine komşu iki gen anlatım kasetini içermektedir ve her bir kaset farklı promotörler ile kontrol edilen CP4 *epsps* genini içermektedir. CP4 *epsps* genleri, CTP (Kloroplast Transit Peptitleri) sekans bölgeleri ile yapışiktir ve CTP CP4 EPSPS proteinini kendisinin doğal lokasyonu olan kloroplastlara yönlendirme görevi görmektedir. İlk *ctp2-cp4 epsps* kaseti, CTP'nin yukarı ucuna bağlanan çeltik aktin promotörü ve çeltik intron dizileri tarafından; ikinci *ctp2-cp4 epsps* kaseti ise yine CTP'nin yukarı ucuna bağlanan

karnabahar mozaik virüsünün (CaMV) kuvvetlendirilmiş 35S promotörünü ve mısır hp proteinini kodlayan genden türetilen intron tarafından kontrol edilmektedir (Şekil 1) (EFSA 2009; Chrenkova ve ark., 2005) .

NK603 mısır çeşidinin yapısı Southern analizi ve DNA dizileme çalışmaları ile incelenmiş, CP4 epsps ekspresyon kasetine ek olarak, ilgili bölgenin bir ucunda bazı yeni moleküler düzenlemeler olduğu ve kloroplast DNA fragmanı içerdiği gözlenmiştir. Gen aktarım bölgesindeki yeni düzenlemelerin ve kloroplast DNA'sı eklentisinin, bitkide yeni özelliklerin ortaya çıkmasına neden olmadığı ve güvenlik riski oluşturmadığı düşünülmüştür (EFSA, 2008). EFSA tarafından DNA parçasının aktarılması sonucu olarak, yeni bir peptidin veya proteinin oluşma olasılığının pek mümkün görünmediği rapor edilmiştir. Biyoinformatik analizler NK603 mısır çeşidinde bilinen toksin ve alerjenleri kodlayan dizileri ile homoloji olmadığını göstermiştir. Bitkiye aktarılan yabancı DNA bölgesinin uzayan kısımlarının baz dizileri ile yapılan BLAST analizleri, DNA aktarımı sonucunda daha önce var olan açık okuma çerçevesinin (ORF) bozulmadığını göstermiştir.



Şekil 1. NK603 mısır çeşidinde bulunan cp4 epsps ekspresyon kasetleri (Deng ve ark., 1999; Chrenkova ve ark., 2005).

1.2. Aktarılan genlerin moleküler yapı, ekspresyonu ve kararlılık analizleri

59122xNK603 mısır çeşidi, genetik yapısı değiştirilmiş 59122 ve NK603 mısır çeşitlerinin klasik melezlenmesi ile elde edilmiş, yeni bir genetik değişim uygulanmamıştır. 59122xNK603 mısır çeşidine aktarılan DNA parçalarının moleküler yapısı, 59122 ve NK603 mısır çeşitlerine aktarılmış DNA parçacıklarına özel DNA problemlerinin Southern blot analizinde kullanımı ile gerçekleştirilmiştir.

59122xNK603 melez mısır çeşidine aktarılan DNA'nın, 59122 mısır çeşidindeki DNA'ya moleküler benzerliğini ve kopya sayısını teyit etmek için genomik DNA SacI kesim enzimi ile kesilmiş ve cry34Ab1 ve cry35Ab1 problemleri ile Southern blot analizi yapılmıştır. NK603 çeşidine aktarılmış parçacık ile kıyaslamak için de 59122xNK603 ve NK603 mısır çeşitlerinin genomik DNA'ları kesim enzimi *EcoRV* ile kesilmiş ve CP4 *epsps* genini kodlayan bölgeleri içeren problemler ile Southern analizine tabii tutulmuştur. Daha detaylı kıyaslamalar mısır 59122 xNK603, 59122 ve NK603 mısır çeşitlerinin genomik DNA'sının SacI enzimi kullanarak kesimi ve *pat* geninin prob olarak kullanımı ile yapılmıştır. Bu analizler, 59122 mısır çeşidine aktarılmış DNA parçasının (sağ sınır bölgesi dahil olmak üzere) 59122xNK603 mısır hibritinde bütünlüğünü teyit etmiştir. Ayrıca hibritde bulunan 59122 mısır çeşidine aktarılmış DNA parçasının sol sınırındaki dizinin bütünlük analizi için bu bölgeye özgü primerlerle PCR yapılmıştır. Ayrıca, 59122xNK603 mısır hibritinde bulunan ve NK603 mısır çeşidine ait olan DNA parçasının bütünlüğü her iki sınır tarafında da teyit edilmiştir.

59122xNK603 mısır çeşidinde Cry34Ab1, Cry35Ab1, PAT, ve CP4 EPSPS ve CP4 EPSPS L214P proteinlerinin anlatım seviyelerinin belirlenmesi için 2003 yılında Amerika Birleşik Devletleri ve Kanada'da 6 adet tarla deneme alanından mısır taneleri toplanmıştır. Proteinler izole edilerek ELISA tekniği ile miktar tayinleri yapılmıştır. Ölçülen protein seviyelerinin herbisit muamelesi ile etkilenmediği tespit edilmiştir.

59122 ve NK603 mısır çeşitlerinin genetik kararlılığı daha önce gösterilmiştir (EFSA 2003a; 2007a). 59122xNK603 mısır çeşidine aktarılmış olan iki DNA parçası birleşmiştir. Southern analiz verileri 59122xNK603 mısır çeşidinde her iki çeşidin varlığını ve aktarılan parçaların korunduğunu göstermiştir. Ayrıca iki farklı çeşitte bulunan özelliklerin bu hibrit mısırdaki korunduğu EFSA (2008) tarafından rapor edilmiştir.

2. Kimyasal Bileşim ve Tarımsal Özelliklerin Risk Analizi

2.1. Kimyasal bileşim analizleri

59122

Farklı bölgelerde ve değişik yıllarda yapılan tarla denemelerinden elde edilen 59122 mısır ve GD olmayan kontrollerinde yağ, protein, kül, nem, karbohidrat, nişasta, yağ asitleri (palmitik, stearik, oleik, linoleik ve linolenik asit), amino asitler (aromatik amino asitleri de içeren 18 amino asit), mineraller (kalsiyum, bakır, demir, magnezyum, manganez, fosfor, potasyum, sodyum, selenyum ve çinko), vitaminler (vitamin B1, vitamin B2, folik asit, β-karoten, vitamin E), anti-besinsel maddeler (fitik asit, rafinoz ve tripsin inhibitörü) ve diğer ikincil metabolitlerin (inositol, furfural, p-kumarik asit ve ferulik asit) analizleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar arasında istatistiki olarak önemli farklılıklar bulunsa da bulguların referans değerleri arasında olduğu görülmüştür (EFSA, 2007a). Kimyasal bileşim açısından 59122 mısır çeşidinin bir risk taşımadığı anlaşılmıştır.

NK603

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

59122xNK603

Avrupa'da 2004 yılında, Kuzey Amerika'da 2003 yılında yapılan tarla denemelerinde üretilen 59122xNK603 mısır, GD olmayan ve ticari mısır hasıllarında ve mısır tanelerinde analizler yapılmıştır. 59122xNK603 mısır çeşidi ve kontrolüne ait hasıllarda, yağ, protein, toplam karbohidrat, lif, kül, mineral analizleri (fosfor ve kalsiyum) yapılarak literatürde (ILSI, 2006; OECD, 2003) bildirilen değerlerle karşılaştırıldığında sonuçların birbirine yakın olduğu gözlenmiştir. 59122xNK603 mısır çeşidi ve kontrolüne ait tanelerde de, yağ, protein, kül, nem, karbohidrat, lif, yağ asitleri (palmitik, stearik, oleik, linoleik ve linolenik asit), amino asitler (aromatik amino asitleride içeren on sekiz amino asit), mineraller (kalsiyum, bakır, demir, magnezyum, manganez, fosfor, potasyum, sodyum, selenyum ve çinko), vitaminler (B₁ vitamini, B₂ vitamini, folik asit, beta-karoten, E vitamini), fitik asit, rafinoz, tripsin inhibitörü ve diğer bileşenlerin (inositol, furfural, p-kumarik asit ve ferulik asit) analizleri yapılmıştır. 59122xNK603 mısır çeşidi ve GD olmayan kontrolü arasında bileşenler açısından bazı analizlerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark ortaya konulmuştur. 59122xNK603 mısır çeşidi ve kontrollerinin aynı mevsim ve farklı herbisit muamelesinden elde edilen hasıl ve tanelerinde yapılan bazı analizlerde (örneğin hasıllarda fosfor, tanelerde ham protein, amino asitler ve kül) istatistik bakımından anlamlı farklılıklar saptanmıştır. Ancak, bu farklılıkların hiçbirinde, süreklilik gözlenmemiştir. Genel olarak elde edilen farklı bileşen düzeyleri denenen mısır çeşitleri için, referans değer aralıkları içinde bulunmuştur (EFSA, 2008).

2.2. Tarımsal Özelliklerin Analizi

Genetiği değiştirilmiş (GD) ve genetiği değiştirilmemiş mısır çeşitleri arasındaki farkları, tüm özellikler bakımından ortaya koyabilmek için son yıllarda çok sayıda araştırma yapılmıştır. GD mısır çeşitleri biyoteknolojik yöntemlerle elde edildiği için, bu yeni çeşitlerde sadece amaca, yani hastalığa/ böceklerle/ yabancı otlara dayanıklılık bakımından değişiklik meydana gelmektedir. Dolayısıyla yapılan araştırmaların sonucu; önemli tarımsal özellikler (tohum ve çiçek morfolojisi, bitki boyu, vejetasyon süresi vb.) bakımından böceklerle ve herbisitlere dayanıklılık geni aktarılmış olan 59122xNK603 mısır çeşidi ile geleneksel hibrit mısır çeşitleri arasında bilinen tarımsal ve biyolojik karakterler ile yabancı ot rekabeti bakımından farklılığın olduğuna dair kesin bir bulgu rapor edilmemiştir (EFSA, 2007a).

3. Çevresel Risk Değerlendirmesi

Ülkemizde GD bitkilerin yetiştirilmesi yasak olduğundan çevresel risk değerlendirmeleri; 59122xNK603 mısır çeşidinin kullanımı dikkate alınarak, hayvan yemi şeklinde tüketimi sonrası sindirim sisteminden başlayıp dışkı ve gübre şeklinde indirekt şekilde maruz kalma, GD ürününü taşıma ve işleme esnasında kazayla çevreye yayılma ile sınırlı tutulmuştur.

NK603 mısır çeşidi glifosat, 59122 mısır çeşidi ise glifosinat herbisitlerine tolerans genleri taşımaktadır. NK603 mısır çeşidindeki glifosat toleransı *Agrobacterium sp.* CP4 suşundan (CP4EPSPS) 5-enolpyruvylshikimate-3- phosphate sentaz geni, 59122 mısır çeşidinde ise *Streptomyces viridochromogenes* bakterisine ait phosphinothricin-N-acetyltransferase (PAT) genini taşımaktadır. 59122 mısır çeşidi bu gene ilaveten *Bacillus thuringiensis* bakterisinden orijinlenen ve kın kanatlı böcek zararlılarından mısır kök kurdu *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte'ya karşı toksik Cry34Ab1 ve Cry35Ab1 proteinlerini kodlayan genlere sahiptir.

3.1. Genetik değişiklikten kaynaklanabilecek yayılma potansiyeli

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

Mısır bitkisi Amerika orijinli bir bitki olup, Amerika kıtasının keşfinden sonra Kuzey Afrika üzerinden Türkiye'ye getirilmiştir. Dolayısıyla Türkiye mısır bitkisinin orijin merkezi değildir ve Türkiye'de endemik bir mısır türü de bulunmamaktadır. Bununla birlikte mısır bitkisinin asırlardan beri Türkiye'de yetiştiriliyor olması sebebiyle sayısız lokal popülasyon ve ıslah edilen çok sayıda yerli çeşidi mevcuttur. Her ne kadar ıslah edilen çeşitlerin ve lokal popülasyonların ihtiva ettikleri ekstrem derecede özel karakterler, literatürlere yansımamış olmakla birlikte bu çeşit ve popülasyonlar biyolojik çeşitlilik açısından önem taşımaktadır.

Yem amaçlı ithal talebinde bulunulan iki herbisite ve böceklerle dayanıklılık geni aktarılmış olan 59122xNK603 mısır çeşidi kültüre alınmasa da kontrol edilemeyen faktörler sebebiyle yerli çeşitlere ve lokal popülasyonlara polen kaçışı riskini çok az da olsa potansiyel olarak taşımaktadır.

Çeşiti geliştiren firma tarafından 2003 yılında ABD'de 5, Kanada'da 1 lokasyonda olmak üzere ebeveyn olarak NK603 ve 59122 mısır çeşitlerinin kullanıldığı 59122xNK603 ile yürütülen tarla denemelerinde hedef zararlı ve iki herbisit kullanıldığı koşullarda mısır bitkilerinin doğaya uyum ve artan bir yaygınlık göstermediği bildirilmiştir (EFSA, 2003a; 2007b).

3.2. Gen transfer potansiyeli

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

3.3. Bitkiden bakteriye gen transferi

EFSA (2004, 2007c), verilerine göre doğal koşullarda GD bitkilerden mikroorganizmalara yatay gen transferi hemen hemen imkansız görünmektedir. Bu ancak mikroorganizmalar içinde homolog rekombinasyonların varlığında mümkün olabilmektedir.

59122xNK603 mısır çeşidi tohumlarının çevreye kazara dağılması durumunda bitkisel materyalin veya doğaya dağılan polenlerin toprakta çürümesi sonucu mikroorganizmalar transgenik DNA ile karşılaşabilecektir. Ayrıca GD mısırdan yapılmış gıda ve yemler de transgenik DNA içermektedir. Bu şekilde insan ve hayvanların sindirim sistemindeki mikroorganizmalar transgenik DNA ile karşılaşabilir. Ancak GD bitki ve ürünlerinden doğaya düşük de olsa dağılabilen bu materyal doğal olarak mikroorganizmalar tarafından parçalanmaktadır (EFSA, 2008).

Ayrıca 59122xNK603 mısır çeşidindeki *cry34Ab1* ve *cry35Ab1* genleri, prokaryotik mikroorganizmalarda sınırlı bir aktiviteye sahip yatay gen transferinin çok düşük olduğu ökaryotik promotör tarafından kontrol edilmektedir. Çeşidin taşıdığı *pat* geni toprak mikrobiyal popülasyonları içinde var olan bir gendir (Hérouet ve ark., 2005). Çeşitteki *cry34Ab1* ve *cry35Ab1* genleri ise doğada bakteriyel popülasyonlar içinde mevcut olan *Bacillus thuringiensis* bakterisinden klonlanmıştır (Schnepf ve ark., 2005).

Adı geçen mısır çeşidindeki *cry34Ab1/cry35Ab1*, *cp4 epsps* ve *pat* genlerinin yapısı ve orijini dikkate alındığında çevre ve sindirim sistemindeki seleksiyon baskısının eksikliği, bu genlerin diğer mikroorganizmalara farklı bir özellik katacak yada uyumunu arttıracak şekilde yatay olarak gen transferini son derece sınırlandırmaktadır. Bu nedenle söz konusu genlerin insan ve hayvan sindirim sistemindeki mikroorganizmalara transferi mümkün görülmemektedir. Çok az bir olasılıkla bu transfer gerçekleşmiş olsa bile insan ve hayvan sağlığı açısından olumsuz bir etki söz konusu olmayacaktır. Çünkü doğal mikrobiyal komüniteye yeni bir özellik katmayacağı gibi mevcut mikroorganizmalara uyumu da son derece sınırlıdır.

3.4. Bitkiden bitkiye gen transferi

Mısır yabancı döllenmiş bir bitkidir. Çiçeklenme periyodu boyunca bir mısır bitkisi 5 milyondan fazla polen üretebilmektedir (Kurt, 2010). Buna bağlı olarak bir bitkiden diğer bir bitkiye polen geçişi, dolayısıyla gen akışı doğal bir süreçtir.

Türkiye'de GD mısırdan gen kaçışı olasılığını sınırlandıran faktörler:

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

Mısır, uygun koşullarda tarımsal ekosistem içerisinde canlılığını sürdürebilen bir bitkidir. İthal talep edilen 59122xNK603 mısır çeşidi sadece yem ve gıda amaçlı olarak kullanılacaktır. Bununla birlikte kontrol edilemeyen faktörler (kaza, dikkatsizlik, kasit vb.) ile çok az da olsa çevreye yayılma olasılığı vardır.

GD mısır kültüre alındığında belirli böceklerle ve herbisitlere karşı dayanıklılık geni içermesi, herbisit ve insektisit kullanılması sonucu yabancı otlarla ve böceklerle mücadele açısından mısır yetiştiriciliğinde önemli bir avantaj sağlamaktadır. Ancak GD mısır, herbisite ve böceklerle dayanıklılık geni dışında hastalıklara dayanıklılık, diğer kültür bitkileri ile rekabette üstünlük, ekstrem koşullarda yaşamını sürdürme, dormansiye sahip olmama gibi özellikler

bakımından geleneksel mısır çeşitlerine göre bir farklılık içermemektedir. Bu durumda da mısır üretim alanları dışındaki farklı ekolojilerde kendiliğinden yetişerek, yaşamını sürdürme şansı bulunmamaktadır. Ayrıca tarla denemeleri 59122xNK603 mısır çeşidinin geleneksel mısır çeşidine göre aşırı bir yayılma, farklı bir gelişme ya da doğaya uyum sağlama özelliğinin bulunmadığını göstermiştir. Ayrıca mevcut literatür incelendiğinde söz konusu çeşitin doğada kalabilme, kışı geçirebilme gibi farklı bir özellik taşımasına yönelik herhangi bir bulguya da rastlanmamıştır.

3.5. Mikroorganizmalara gen transferi

Mevcut bilimsel veriler dikkate alındığında; mikroorganizmalar arasındaki uyumlu rekombinasyonlar olması durumunda gen transferi gerçekleştiği için, doğal koşullarda GD bitkilerden mikroorganizmalara gen transferi hemen hemen imkansız görünmektedir. 59122xNK603 mısır çeşidi tohumlarının çevreye kazara dağılması durumunda bitkisel materyalin veya doğaya dağılan polenlerin toprakta çürümesi sonucu mikroorganizmalar transgenik DNA ile karşılaşabilecektir. Ayrıca GD mısırdan yapılmış gıda ve yemler de transgenik DNA içermektedir. Bu şekilde insan ve hayvanların sindirim sistemindeki mikroorganizmalar transgenik DNA ile karşılaşabilir.

Sonuç olarak 59122xNK603 mısır çeşidinin, hayatta kalabilme, çoğalma ve yayılma açısından bir değişiklik içermediği, söz konusu mısırdan gen kaçışının son derece düşük bir ihtimal dahilinde olduğu bu nedenlerden dolayı da beklenmedik bir çevresel etki yaratmayacağı kanısına varılmıştır.

3.6. Hedef organizmalar ile etkileşim potansiyeli

59122xNK603 mısır çeşidindeki *Bacillus thuringiensis* bakterisinden orijinlenen Cry34Ab1 ve Cry35Ab1 proteinleri birlikte kın kanatlılar takımından mısır kök kurtlarına [*Diabrotica virgifera virgifera* (LeConte), *D. barberi* (Smith & Lawrence) ve *D. undecimpunctata howardi* (Barber)] karşı etkilidir (Masson ve ark., 2004). Bu konuda yapılan çalışmalar Cry34Ab1 proteininin tek başına mısır kök kurtları larvasına karşı etkili olmadığı maksimum böcek öldürücü etkinin iki proteinin birlikte olduğu koşullarda elde edildiğini göstermiştir (Herman ve ark., 2002). Bu şekildeki çift toksin etkisinin Cry34Ab1'in böcek mide epitel hücrelerindeki reseptörlere bağlanma özelliğinde, Cry35Ab1'in de epitel hücre membranlarında por oluşumundan sorumlu olduğu belirtilmiştir (de Maagd ve ark., 2003).

59122xNK603 mısır çeşidi ülkemizde yetiştirilmediği sürece, taşınma, depolama ve işleme sırasında tohumların kazara dökülmesi veya GD mısırla beslenen hayvanların dışkı ve gübreleri yoluyla çevreye dağılması sonucu ülkemizdeki hedef organizmalar bu genlerle karşılaşabilir. Ancak söz konusu mısır çeşidindeki Cry34Ab1 ve Cry35Ab1 proteinleri ülkemizde hedef organizmalarla karşılaşma riski çok düşüktür ve ekolojik olarak da bir risk taşımamaktadır (EFSA, 2008).

3.7. Hedef olmayan organizmalar ile etkileşim potansiyeli

59122xNK603 mısır çeşidi ile hedef olmayan organizmalar çevreye kazara dağılan GD mısır tohumlarından oluşan bitkiler veya hayvan dışkı ve gübreleri ile indirekt olarak karşılaşması olasıdır. Ancak söz konusu mısır çeşidine ait Cry proteinleri (Herman ve ark., 2002) ve diğer Cry proteinlerinin (Ahmad ve ark., 2005; Lutz ve ark., 2005) hedef olmayan organizmalara etkisine yönelik yürütülen araştırmalar; bu proteinlerin GD mısırla beslenen hayvanların sindirim sisteminde enzimatik olarak parçalandığı, dışkı ve gübre şeklinde çevreye yayılan miktarın son derece düşük olduğunu göstermiştir. Bu şekilde atılan proteinler de büyük oranda doğada dışkı ve gübre içindeki mikrobiyal faaliyet sonucu tamamen parçalanmaktadır. Yine bu konuda yapılan çalışmalar organik atıkların çevreye bırakılması, toprak ve suya doğrudan proteinlerin karışması durumunda da bulaşmanın yerel düzeyde ve

son derece düşük oranlarda olduğunu göstermiştir (Baumgarte ve Tebbe, 2005; Hopkins ve Gregorich, 2003).

4. Yem Güvenliğinin Değerlendirilmesi

4.1. İşleminin Etkisi

59122xNK603 mısır çeşidi ile geleneksel mısırın kimyasal kompozisyon olarak eşdeğer olduğu göz önüne alındığında işleminin de etkisinin farklı olması beklenmemektedir (EFSA, 2008).

4.2. Toksikolojik Değerlendirmeler

4.2.1. 59122xNK603 mısır çeşidinde ifade edilen yeni proteinlerin toksikolojik yönden değerlendirilmesi

59122

59122 mısır çeşidinde ifade edilen proteinlerin düşük miktarda olması ve toksisite çalışmalarında kullanılabilir miktarda izole edilememesi nedeniyle, bunların yerine *Pseudomonas fluorescens* tarafından üretilen Cry34Ab1 ve Cry35Ab1 proteinleri ile *E.coli* tarafından üretilen pat proteininin kullanıldığı çalışmalar EFSA tarafından incelenmiştir. EFSA, bitkisel proteinlerle bakteriyel proteinlerin eşdeğer olduğunun deneysel olarak kanıtlanması nedeniyle, toksisite çalışmalarında bakteriyel proteinlerinin bitkisel proteinlerin yerine kullanılabilirliğini kabul etmektedir. Farelerde yapılan akut ve tekrarlanan (28 gün) oral toksisite çalışmalarında Cry34Ab1 ve Cry35Ab1 proteinlerinin hiçbir istenmeyen etki göstermediği, yapay mide sıvısında ve ısı uygulamasında hızla parçalandığı bildirilmektedir. 59122 mısırdaki oldukça düşük oranda ifade edilmiş pat proteininin ise fare ve sıçanlarda sırasıyla akut ve tekrarlanan (14 gün) oral toksisite çalışmalarında istenmeyen etkiye neden olmadığı, ayrıca yapay mide sıvısında hızla parçalandığı rapor edilmiştir. EFSA'ya göre Cry34Ab1, Cry35Ab1 ve Pat proteinlerinin sekansı, bilinen toksinler veya alerjenlerin sekansı ile da herhangi bir benzerlik göstermemiştir. 59122 mısır içeren yemle yapılan 90 günlük sıçan besleme çalışmasında da istenmeyen etkiyle karşılaşılmağıdır. Ayrıca etlik piliçlerde 59122 mısırla yapılan besleme çalışmasında elde edilen performans verileri, benzeri genetiği değiştirilmemiş mısırla eşdeğer bulunmuştur. Bu bulgular, proteinlerin amaçlanan etkilerinin dışında başka bir etkiye yol açmadığını destekler nitelikte görülmüştür (EFSA, 2007b).

NK603

Aynı şekilde NK603 mısır çeşidinde ifade edilen proteinlerin düşük miktarda olması ve yeterli bir şekilde izole edilememesi nedeniyle toksisite çalışmalarında *E.coli* tarafından üretilen CP4 EPSPS ile CP4 EPSPS L214P proteinlerinin kullanıldığı çalışmalar EFSA tarafından değerlendirilmiştir. EFSA, bitkisel proteinlerle bakteriyel proteinlerin eşdeğer olduğunun deneysel olarak kanıtlanması nedeniyle, toksisite çalışmalarında bakteriyel proteinlerinin bitkisel proteinlerin yerine kullanılabilirliğini kabul etmektedir. CP4 EPSPS ve CP4 EPSPS L214P proteinleriyle farelerde akut oral toksisite çalışmalarında hiçbir istenmeyen etki görülmediği, yapay mide sıvısında hızla parçalandığı bildirilmiştir. Biyoinformatik incelemelerin CP4 EPSPS proteinlerinin bilinen toksik ve allerjenik proteinlerle eşdeğer olmadıklarını gösterdiği rapor edilmiştir. Sıçanlarla yapılan 13 haftalık oral toksisite çalışmasında ters bir etki görülmediği, etlik piliçlerle yapılan 42 günlük besleme çalışması da NK603 mısırın kendisine genetik olarak yakın genetiği değiştirilmemiş mısır veya diğer ticari mısır çeşitleriyle karşılaştırılmasında besleyici yönden farklı olmadığı belirtilmiştir. NK603 mısır çeşidinin diğer genetiği değiştirilmemiş mısırlarla besin değeri yönünden eşdeğer olduğunun EFSA'ya sunulan Angus-Continental melezi danalar, Holstein süt inekleri ve 2 ırk

büyütme-bitirme dönemi domuzlarda yapılan çalışmalarda da doğrulandığı rapor edilmiştir. EFSA'ya göre bu bulgular, proteinlerin amaçlanan etkilerinin dışında başka bir etkiye yol açmadığını destekler niteliktedir (EFSA, 2003b,c).

Vendemois ve ark. (2009) tarafından yapılan bir çalışmada dünyada hem gıda hem de yem olarak kullanılan 3 ana ticari genetiği değiştirilmiş mısır (NK 603, MON810 ve MON863), sıçanlara yedirilerek alınan kan ve organlarında karşılaştırmalı analizler yapılmıştır. 2 farklı laboratuvar ve 2 farklı tarihte yapılan bu çalışmada yaklaşık 4-6 haftalık erkek ve dişi Sprague-Dawley ırkı sıçanlar kullanılmıştır. Her grupta 20 erkek ve 20 dişi tutulmuş, ancak her grupta 10 sıçandan kan ve idrar örnekleri alınmıştır. Çalışma OECD rehberi ve standartları kullanılarak yürütülmüştür. Her tip genetiği değiştirilmiş mısır için yalnız 2 besleme kürü kullanılmıştır (%33 veya %11 oranında genetiği değiştirilmiş mısır içeren bir yem). Kontrol için de 2 farklı kontrol grubu tutulmuştur (aynı miktarda en yakın özellikte veya ana hat mısır içeren yemler). Diğer 6 gruba ayrıca başka normal (genetiği değiştirilmemiş) referans mısır hatları içeren yemler yedirilmiştir.

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

Ana mısır hattı 59122 mısır çeşidinde ifade edilen CRY34Ab1, CRY35Ab1 ve PAT proteinleri ile ana mısır hattı NK603 mısır çeşidinde ifade edilen CP4 EPSPS ve CP4 EPSPS L214P proteinleri daha önce EFSA tarafından (EFSA, 2003b,c; EFSA, 2004; EFSA, 2005a,b,c,d; EFSA, 2006; EFSA, 2007c,d) değerlendirilmiş ve istenmeyen etkileri bulunmadığı belirtilmiştir. Bu çeşitlerin melezlenmesi sonucunda elde edilen 59122xNK603 mısır çeşidinde olumsuz etkiler bakımından herhangi bir sinerjistik ya da antogonistik etkileşim olmayacağı düşünülmektedir.

4.2.2. Proteinler dışında yeni bileşiklerin toksikolojik değerlendirmesi

59122xNK603 mısır çeşidinde CRY34Ab1, CRY35Ab1, PAT, CP4 EPSPS ve CP4 EPSPS L214P proteinlerinin dışında başka bir yeni bileşik bulunmamıştır.

4.2.3. Tüm genetiği değiştirilmiş yemin toksikolojik değerlendirmesi

59122 ve NK603 mısır çeşitlerinin yem olarak tüketimi yönünden geleneksel benzerleri kadar güvenli olduğu bildirilmektedir (EFSA, 2003b,c; 2007c).59122xNK603 mısırdaki yürütülen moleküler karakterizasyon çalışmasında bunların çaprazlanarak bir araya getirilmesinde bile 2 genin stabilitesinin değişmediğini göstermiştir. CRY34Ab1, CRY35Ab1, PAT, CP4 EPSPS ve CP4 EPSPS L214P proteinlerinin ifade edilme analizleri onların protein ifade düzeylerinde herhangi bir değişiklik ortaya koymamıştır. Bu nedenle, bu çeşitten elde edilen yemin toksikolojik açıdan eşdeğeri geleneksel mısır çeşitleriyle aynı olacağı düşünülmektedir.

4.2.4. Allerjenite

4.2.4.1. Yeni ifade edilen proteinlerin alerjenitesinin değerlendirilmesi

59122xNK603 mısır çeşidinde bulunan yeni ifade edilen proteinler daha önce değerlendirilmiş ve alerjik olmadıkları belirlenmiştir (EFSA, 2003a,b,c; EFSA, 2004; EFSA, 2005a,b,c,d; EFSA, 2006; EFSA, 2007c,d).

4.2.4.2. Tüm bitkinin alerjenitesinin değerlendirilmesi

Bu çeşidin yem olarak tüketiminin, geleneksel eşdeğerlerinden fazla alerjik olduğuna dair herhangi bir bulguya rastlanılmamıştır.

4.2.5. 59122xNK603 mısır çeşidinin yem olarak değerlendirilmesi

Etlik piliçlerde 59122x1507xNK603 mısır çeşidinin kullanıldığı bir besleme çalışmasında mortalite, canlı ağırlık artışı, yemden yararlanma oranı, but, göğüs, kanat, bacak, karın yağı, böbrek ve karaciğer açısından genetiği değiştirilmiş mısırla geleneksel mısır arasında bir farklılık görülmemiştir (EFSA, 2008).

GENEL SONUÇ ve ÖNERİLER

Genetiği değiştirilmiş bir bitki materyalinin gıda ve yem güvenliği açısından bilimsel risk analiz ve değerlendirmesi, bir çeşidin geliştirilmesinde kullanılan gen aktarım yöntemi, aktarılan genin moleküler karakterizasyonu ve ürettiği protein, besin değeri, olası alerjik, toksik ve çevreye gen kaçıışı ile oluşabilecek riskler dikkate alınmaktadır.

Bitkilere gen aktarımında yabancı genin bitki genomuna girişi rastgele olmaktadır ve aktif halde bulunan genlerin değişmesi, sessizleşmesi veya sessiz halde bulunan genlerin aktif hale gelmesi gibi değişimler meydana gelebilmektedir. Ren ve ark., (2009) tarafından yapılan çalışmada, genetiği değiştirilmiş Arabidopsis bitkilerde protein düzeyinde yapılan çalışmalarda 102 adet yeni protein belirlenmiştir. Beklenmeyen etkiler olarak tanımlanan bu değişimler, yeni metabolitlerin oluşmasına veya mevcut metabolitlerin değişmesine neden olabilmektedir (Ren, 2009, Kuiper, 2004).

59122xNK603 mısır çeşidinin elde edilmesinde kullanılan gen aktarım yöntemi ve aktarılan genin moleküler karakterizasyonu ile ilgili literatür incelendiğinde bilinen herhangi bir olumsuz sonuca rastlanılmamıştır. Aynı şekilde 59122xNK603 mısır çeşidinin ürettiği proteinin yapılan biyoinformatik analizler sonucunda bilinen bir alerjen ve toksik proteinle homolojisine rastlanılmamıştır. 59122xNK603 mısır çeşidinin yem olarak kullanıldığı sınırlı sayıda araştırma sonuçlarında kontrolle (Genetiği değiştirilmemiş mısır yemi) karşılaştırıldığında bu ürünü içeren yemlerle beslenen deney gruplarında doğal varyasyon dışında ve tutarlı olabilecek toksik ve alerjik farklılıklar ortaya çıkmadığı görülmüştür.

59122xNK603 mısır çeşidi tarımsal özellikler ve çevresel risk açısından değerlendirilmiştir. Bu çeşidin geleneksel mısır çeşitleriyle farklı olmadığı sonucuna varılmıştır. Ancak, genetiği değiştirilmiş bitkilerin ülkemizde yetiştirilmesi 5977 sayılı kanun kapsamında yasak olmakla birlikte ithal edilmesi düşünülen 59122xNK603 mısır çeşidi tanelerinin amaç dışı çevreye dağılması ve olası kaçak ekimler nedeniyle gen kaçıışı riskinin olabileceği bu nedenle ithaline izin verilmesi durumunda yetkili kuruluşlar tarafından izlenmelidir.

Sonuç olarak, komitemiz var olan bilgi ve veriler ışığında 59122xNK603 melez mısır çeşidinin yem olarak kullanılmasının insan, hayvan ve çevre sağlığı açısından kayda değer bir risk taşımayabileceğine oy çokluğuyla karar vermiştir.

KAYNAKLAR

Ahmad, A., Wilde G.,E., Zhu K., Y. (2005). Detectability of Coleopteran-specific Cry 3Bb1 protein in soil and its effect on non-target surface and below-ground arthropods. Environmental Entomology, 34: 385-394.

Baumgarte, S., Tebbe, C. (2005). Field studies on the environmental fate of the Cry1Ab Bt-toxin produced by transgenic maize (MON810) and its effect on bacterial communities in the maize rhizosphere. Molecular Ecology, 14:2539-2551.

Chrenkova, M., Vasicek, D., Sochova, P., Vasickova, K., Chrastinova, L., Ceresnakova, Z., Sommer, A. (2005). Nutritional assessment and and fate of DNA of roud up ready maize using rats. *Archiva Zootechnica*, Vol 8:148-157.

de Maagd, R.A., Bravo A., Berry C, Crickmore N., Schnepf H.E. (2003). Structure, diversity, and evolution of protein toxins from spore-forming entomopathogenic bacteria. *An. Rev. Genet.*, 37:409-33.

Deng, M.Y., Lirette, R.P., Cavato, T.A., Sidhu, R.S. (1999). Molecular characterization of Roundup Ready corn line NK60. Monsanto Technical Report MSL-16214, St Louis.

EFSA (2003a). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the Notification (Reference CE/ES/00/01) for the placing on the market of herbicide-tolerant genetically modified maize NK603, for import and processing, under Part C of Directive 2001/18/EC from Monsanto (Question No EFSA-Q-2003-003). *EFSA Journal*, 10:1-13.
http://www.efsa.eu.int/science/gmo/gmo_opinions/176/opinion_gmo_03_final_en1.pdf

EFSA (2003b). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the Notification (Reference CE/ES/00/01) for the placing on the market of herbicide-tolerant genetically modified maize NK603, for import and processing, under Part C of Directive 2001/18/EC from Monsanto (Question No EFSA-Q-2003-003). *EFSA Journal*, 10, 1-13. http://www.efsa.eu.int/science/gmo/gmo_opinions/176/opinion_gmo_03_final_en1.pdf

EFSA (2003c). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the safety of foods and food ingredients derived from herbicide-tolerant genetically modified maize NK603, for which a request for placing on the market was submitted under Article 4 of the Novel Food Regulation (EC) No 258/97 by Monsanto (Question No EFSA-Q-2003-002). *EFSA Journal*, 9: 1-14.
http://www.efsa.eu.int/science/gmo/gmo_opinions/177/opinion_gmo_02_final_en1.pdf

EFSA (2004). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on the use of antibiotic resistance genes as marker genes in genetically modified plants. *EFSA Journal*, 48: 1-18.

EFSA (2005a). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on an application for the placing on the market of insect-tolerant genetically modified 1507 maize, for food use, under Regulation (EC) No 1829/2003 from Pioneer Hi-Bred International/Mycogen Seeds. *The EFSA Journal* (2005) 182, 1-22.
http://www.efsa.europa.eu/EFSA/Scientific_Opinion/gmopanelriskassessment1.pdf

EFSA (2005b). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the notification (Reference C/ES/01/01) for the placing on the market of insect-tolerant genetically modified maize 1507, for import, feed and industrial processing and cultivation, under Part C of Directive 2001/18/EC from Pioneer Hi-Bred International/Mycogen Seeds. *The EFSA Journal* (2005) 181, 1-33.
http://www.efsa.europa.eu/EFSA/Scientific_Opinion/op_gm08_ej181_1507_opinion_doc1_2en1.pdf

EFSA (2005c). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the notification (Reference C/F/96/05.10) for the placing on the market of insect resistant genetically modified maize Bt11, for cultivation, feed and industrial processing, under Part C of Directive 2001/18/EC from Syngenta Seeds1. The EFSA Journal (2005) 213, 1-33. http://www.efsa.europa.eu/EFSA/Scientific_Opinion/gmo_opinion_ej213_bt11maize_cultivation_en1,1.pdf

EFSA (2005d). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the application (Reference C/BE/96/01) for the placing on the market of glufosinate-tolerant hybrid oilseed rape Ms8 x Rf3, derived from genetically modified parental lines (Ms8, Rf3), for import and processing for feed and industrial uses, under Part C of Directive 2001/18/EC from Bayer CropScience. The EFSA Journal, 281: 1-23

EFSA (2006). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on an application (Reference EFSA-GMO-NL-2005-13) for the placing on the market of glufosinate-tolerant genetically modified LLCOTTON25, for food and feed uses, and import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Bayer CropScience. The EFSA Journal (2006) 429, 1-19. http://www.efsa.europa.eu/EFSA/Scientific_Opinion/gmo_op_ej429_LLcotton25_en.pdf

EFSA (2007a). 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 insectresistant genetically modified maize 59122, for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003, from Pioneer Hi-Bred International, Inc. and Mycogen. Seeds, c/o Dow Agrosciences LLC (Reference EFSA-Q-2005-045). The EFSA Journal, 470: 1-25

EFSA (2007b). 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.

EFSA (2007c). Statement of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on the safe use of the nptII antibiotic resistance marker gene in genetically modified plants adopted on22-23March2007. <http://www.efsa.europa.eu/etc/medialib/efsa/science/gmo/statements/npt2>. Par. 0001. File dat/gmo_statement_%20nptII_.pdf

EFSA (2007d). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on an application (Reference EFSA-GMO-UK-2004-04) for the placing on the market of glufosinate tolerant genetically modified rice LLRICE62 for food and feed uses, import and processing, under Regulation (EC) No 1829/2003 from Bayer CropScience GmbH.

EFSA (2008). Scientific Opinion of the Panel on Genetically Modified Organisms on application (Reference EFSA-GMO-UK-2005-20) for the placing on the market of the insect-resistant and herbicide-tolerant genetically modified maize 59122 x NK603, for food and feed uses, and import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Pioneer Hi-Bred International, The EFSA Journal, 874:1-34.

EFSA (2009). Herbicide tolerant GM maize NK603 for cultivation, food and feed uses and import and processing and for the renewal of the authorisation of existing products, The EFSA Journal, 1137: 10-50

Herman, R.A., Scherer, P.N., Young, D.L., Mihaliak, C.A., Meade, T., Woodsworth, A.T., Stockhoff, B.A., Narva, K.E. (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.

Herouet, C., Esdaile, D.J., Mallyon, B.A., Debruyne, E., Schulz, A., Currier, T., Hendrickx, K., van der Klis, R.J., Rouan, D. (2005). Safety evaluation of the phosphinothricin acetyltransferase proteins encoded by the pat and bar sequences that confer tolerance to glufosinate-ammonium herbicide in transgenic plants. Regul Toxicol Pharmacol., 41(2), 134-149.

Hopkins, D.W., Gregorich E.G. (2003). Detection and decay of the Bt endotoxin in soil from a field trial with genetically modified maize. European Journal of Soil Science, 54:793-800.

ILSI (2006). ILSI Crop Composition Database Web site. Version 3.0 <http://www.cropcomposition.org/>

Kırtok, Y. (1998). Mısır Üretimi ve Kullanımı. Ç.Ü. Zir. Fak. Tarla Bitkileri Bölümü. Kocaoğluk Basım ve Yayınevi, Tarsus.

Kuiper, H.A. (2004). Food and chemical toxicology - Introduction. Food and Chemical Toxicology 42: 1044-1045.

Kurt, O. (2010). Bitki Islahı. OMU Ziraat Fakültesi Yayın No: 43 (3. Basım).

Lutz, B., Wiedemann, S., Einspanier, R., Mayer, J., Albrecht, C. (2005). Degradation of Cry1Ab protein from genetically modified maize in the bovine gastrointestinal tract. Agric. Food Chem., 53(5):1453-1456.

Masson, L., Schwab, G., Mazza, A., Brousseau, R., Potvin, L., Schwartz, J.L. (2004). A novel *Bacillus thuringiensis* (PS149B1) containing a Cry34Ab1/Cry35Ab1 Binary Toxin Specific for the Western Corn Rootworm *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte Forms Ion Channels in Lipid Membranes. Biochemistry, 43 (38): 12349 -12357.

OECD (2003). Consensus Document on the biology of Zea mays subsp. Mays (Maize). Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology (ENV/JM/MONO(2003)11), No. 27, 1-49.

RenY, Lv J, WangH, Li L, Peng Y, Qu LJ. (2009). A comparative proteomics approach to detect unintended effects in transgenic Arabidopsis. J Genet Genomics, 36: 629–639.

Schnepf, H.E., Lee, S., Dojillo, J., Burmeister, P., Fencil, K., Morera, L., Nygaard, L., Narva, K.E., Wolt, J.D. (2005). Characterization of Cry34/Cry35 binary insecticidal proteins from diverse *Bacillus thuringiensis* strain collections. Appl Environ Microbiol., 71(4), 1765-74.

Vendomois, J.S., Roullier, F., Cellier, D. and Seralini, G.E. (2009). A Comparison of the Effects of Three GM Corn Varieties on Mammalian Health. International Journal of Biological Sciences, 5(7):706-726.