

YEM AMACIYLA İTHALİ İSTENEN GENETİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ (59122 x 1507 x NK603) MISIR ÇEŞİDİ ve ÜRÜNLERİ İÇİN BİLİMSEL RİSK DEĞERLENDİRME RAPORU

1. RAPORUN HAZIRLANIŞ GEREKÇESİ VE DAYANAKLARI

Bu rapor, Coleoptera takımına (*cry34Ab1*, *cry35Ab1*) ve Lepidoptera takımına bağlı bazı zararlı türlere (*cry1F*) dayanıklılık ve glufosinat amonyum (*pat*) ve glifosat (CP4 *epsps*) herbisitlere toleransın sağlanması amacı ile genetiği değiştirilmiş mısır çeşidinin yem amaçlı ithalatı için, 5977 sayılı Biyogüvenlik Kanunu ve 13.08.2010 tarihli 27671 sayılı “Genetik Yapısı Değiştirilmiş Organizmalar ve Ürünlerine Dair Yönetmelik” uyarınca Biyogüvenlik Kurulunun 03.03.2010 tarih ve 6 No’lu 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 ve Japonya Çevre Bakanlığı) görüşleri ve bilimsel araştırmaların sonuçları ile farklı ülkelerdeki üretim ve tüketim durumları göz önünde bulundurulmuştur. Risk değerlendirmesi gen aktarım yöntemi, aktarılan genlerin ve ürünlerinin moleküler düzeyde tanımlanması, çeşidin muhtemel alerjik ve toksik etkileri ile çevreye olası riskleri dikkate alınarak yapılmıştır.

Rapordaki bilgiler; İthalatçı ve çeşidi geliştiren kuruluş, ithal edilmek istenen çeşit ve ürünleri, çeşidin geliştirilme amacı, risk analizi ve değerlendirilmesi, genel sonuç ve öneriler ve risk yönetimi başlıkları altında verilmiştir.

2. İTHALATÇI KURULUŞ

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

3. İTHAL EDİLMEK İSTENEN ÇEŞİT ve ÜRÜNLERİ

59122 x 1507 x NK603; glifosat ve glufosinat amonyum’a toleranslı ve *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai*’ye ait *cry1F* ve *B. thuringiensis* PS149B1’e ait *cry34Ab1*, *cry35Ab1* genlerinin ürettiği

toksinlerin Lepidoptera ve Coleoptera takımlarında yer alan hedef zararlı türlere dayanıklı olarak tanımlanan üçlü melez mısır çeşididir.

4. ÇEŞİDİ GELİŞTİREN KURULUŞ

Pioneer Overseas Corporation Avenue des Arts 44B-1040 Brussels – BELGIUM

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

5. ÇEŞİDİN GELİŞTİRİLME AMACI

Pioneer Overseas Corporation firması 59122 x 1507 x NK603 üçlü melez mısır çeşidini hem glifosat ve glufosinat amonyum'a tolerans ve hem de Lepidoptera ve Coleoptera takımlarında yer alan hedef zararlı türlere dayanıklılık amacıyla geliştirmiştir.

6. RİSK ANALİZİ ve DEĞERLENDİRİLMESİ

59122 x 1507 x NK603 mısır çeşidine ve ürünlerine ait bilimsel risk analiz ve değerlendirmesi; bu çeşidin geliştirilmesinde kullanılan gen aktarım yöntemi, aktarılan genlerin ve ürünlerinin moleküler düzeyde tanımlanması, çeşidin muhtemel alerjik ve toksik etkileri ile çevre ve biyolojik çeşitlilik üzerine olası riskleri dikkate alınarak hazırlanmıştır.

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

6.1. Moleküler Genetik Yapı Tanımlanması ve Değerlendirilmesi

6.1.1. Aktarılan genleri taşıyan vektörlerin yapısı ve gen aktarım yöntemi

59122 x 1507 x NK603 çeşidinde Çizelge 1'de belirtilen genetik elementler bulunmaktadır ve gen aktarımı amacıyla; 59122 için *Escherichia coli* nin pSB1'den elde edilen plazmit PHP17662, 1507 için *E. coli* nin pUC19'dan elde edilen plazmit PHP8999 ve NK603 için *E. coli* nin pUC119'dan elde edilen plazmit PV-ZMGT32 kullanılmıştır (Anonim, 2006).

Çizelge 1. 59122 x 1507 x NK603 çeşidine aktarılan genler ve kaynakları (EFSA, 2009).

Aktarılan genler (59122):	
<i>cry34Ab1, cry35Ab1</i>	Kaynak: <i>B. thuringiensis</i> PS149B1
<i>pat</i>	Kaynak: <i>Streptomyces viridochromogenes</i>
Aktarılan genler (1507):	
<i>cry1F</i>	Kaynak: <i>B. thuringiensis</i> ssp. <i>Aizawai</i>
<i>pat</i>	Kaynak: <i>S. viridochromogenes</i>
Aktarılan genler (NK603):	
CP4 <i>epsps</i>	Kaynak: <i>Agrobacterium</i> ssp. CP4

Bu çeşidin geliştirilmesinde, Coleoptera takımında yer alan bazı zararlı türlere (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte, *D. barberi* Smith & Lawrence, *D. undecimpunctata howardi* Barber) dayanıklılık sağlayacak Cry34Ab1 ve Cry35Ab1 proteinleri ile glufosinat amonyuma tolerans sağlayacak PAT proteinini üreten 59122; Lepidoptera takımına bağlı zararlı türlere (örn. *Ostrinia nubilalis*, *Sesamia* spp.) dayanıklılık sağlayacak Cry1F proteinini ve glifosata tolerans sağlayacak PAT proteinini üreten 1507 ile glifosat'a tolerans sağlayan CP4 EPSPS proteinini sentezleyen NK603 kullanılmıştır (Ellis ve ark., 2002; Poletica, 2003 ; Masson ve ark., 2004; Schnepf ve ark., 2005).

59122 x 1507 x NK603; *Agrobacterium tumefaciens* yöntemiyle gen aktarılan 59122 (Coleoptera takımına bağlı zararlılara dayanıklı ve glufosinat amonyuma toleranslı), partikül bombardımanı yöntemiyle gen aktarılmış 1507 (Lepidoptera takımına bağlı zararlılara dayanıklı ve glifosata toleranslı) ve NK603 (glifosata toleranslı)'in melezlenmesi ile elde edilen ve bu özelliklerin tümünü içeren melez mısır çeşididir.

6.1.2. Aktarılan genlerin moleküler yapısı, anlatım ve stabilitesi

59122 x 1507 x NK603 çeşidinin moleküler analizleri bu çeşitteki "insert" olarak adlandırılan transgenlerin her birinin, bireysel transgenik çeşitler olan 59122, 1507 ve NK603 ile aynı özelliklerde olduğunu ortaya koymaktadır. Bu durum, her bir gen için gerçekleştirilen transformasyon ve sonrasındaki integrasyonun 59122 x 1507 x NK603 çeşidinde stabil olduğunu göstermektedir. 59122 x 1507 x NK603 çeşidinde her bir gen için gerçekleştirilen biyoenformasyon analizler toksin veya alerjenleri şifreleyen yeni bir açık okunma çerçevesinin olmadığını ortaya koymuştur (EFSA, 2009).

Karşılaştırmalı analizler 59122 x 1507 x NK603 çeşidinin Cry34Ab1, Cry35Ab1, Cry1F, CP4 EPSPS, CP4 EPSPS L214P ve PAT proteinlerini şifreleyen genler dışında içerik ve tarımsal özellikler açısından klasik ıslah yöntemiyle elde edilmiş mısırla eşdeğer olduğunu ortaya koymaktadır.

59122 x 1507 x NK603 melez mısır çeşidi üçlü melez olduğu için, önce yapısında yer alan ve 59122, 1507 ve NK603 ile kodlanan anaçların moleküler düzeyde tanımlanmaları bireysel olarak aşağıda verilmiş ve daha sonra bu melezin moleküler düzeyde tanımlanması yapılmıştır.

59122 mısır çeşidi aktarılmak istenen DNA parçasını taşıyan tek bir T-DNA içermektedir. DNA parçasının yapısı Southern blot ve DNA dizi analizleriyle ortaya konmuştur. Herhangi bir vektör iskelet dizisi belirlenmemiştir. Yapılan BLAST analizleri 59122 mısır çeşidindeki bağlayıcı bölgelerin EST dizileri ve mısır genomik DNA'sı ile yüksek oranda homoloji gösterdiğini ortaya koymuştur. BLASTn ve BLASTx analizleri ise 59122 mısır çeşidindeki DNA'nın PPR (pentatricopeptide repeat) *emp4* (empty pericarp4) geninin bulunduğu kodlayıcı bölgenin 1032 baz çifti aşağısına yerleştiğini göstermiştir. PPR mısırdaki tohum gelişimi için esas olan bir proteindir. 59122 mısır çeşidinde gerçekleştirilen gen aktarımının tohum gelişimini etkilememesi, aktarılan *emp4* geninin anlatımını etkilememesinden dolayıdır. İki bağlantı bölgesinde uzanan açık okunma çerçevelerinin biyoenformasyon analizleri, bilinen toksin veya alerjenlerin sentezlenmesine neden olabilecek gen dizileriyle dizi benzerliği gösteren yeni açık okunma çerçevelerinin olmadığını ortaya koymuştur, bu durum gelişmiş ORF analizleriyle doğrulanmıştır. 59122 mısır çeşidinin Southern blot analizi ve fenotipik durumu genetik ve fenotipik stabilitenin 4 jenerasyon boyunca devam ettiğini göstermiştir.

Moleküler analizler 1507 mısır çeşidinin *cry1F* ve *pat* genlerini de içeren ve transformasyon için kullanılan DNA parçalarından bir kopya içerdiğini ortaya koymuştur ve bu DNA parçası transgenik bitkinin nükleer genomunda tek bir lokusta yer almaktadır.

1507 mısır çeşidindeki DNA parçasının yapısı Southern blot ve DNA dizi analizleriyle belirlenmiştir. Aktarılabak parça "intact" durumdaki genlerle birlikte mısır kloroplast dizilerinin yanı sıra transformasyon için kullanılan DNA dizilerini de içermektedir (EFSA, 2004). İki bağlantı bölgesinde uzanan açık okunma çerçevelerinin biyoenformasyon analizleri, bilinen toksin veya alerjenler ile dizi benzerliği gösteren yeni proteinlerin olmadığını ortaya koymuştur. Ayrıca, 2 ORF (ORF3 ve 4) için Northern blot ve RT-PCR analizleri yapılmıştır ve *Cry1F* ve *pat* genlerinden anlatımı olan mRNA'lar dışında yeni bir RNA molekülünün transkripsiyonu gözlenmemiştir. Bağlayıcı bölgelerin BLAST analizi mısır 1507 çeşidindeki DNA parçasının aşağı bölgede RIRE2 retrotranspozonu yukarı bölgede *Huck1* retrotranspozal element ile bağlandığını ortaya koymuştur. 1507 mısır çeşidinin Southern blot analizi ve fenotipik durumu genetik ve fenotipik stabilitenin jenerasyonlar boyunca devam ettiğini göstermiştir. Aktarılabak DNA parçasına bağlanan DNA dizilerinin stabilitesinde herhangi bir sorun gözlenmemiştir.

Moleküler analizler NK603 mısır çeşidinin transformasyonda kullanılan plazmid yapısı içinde "insert" DNA'sının tek kopya olarak yer aldığını ortaya koymuştur. Bu yapı her biri farklı promotörlerle beraber olmak üzere CP4 *epsps* genini tek kopya olarak içeren iki komşu bitki anlatım kasetinden oluşmaktadır. NK603 mısır çeşidindeki DNA parçasının yapısı Southern blot ve DNA dizi analizleriyle ortaya konmuştur. Bu iki CP4 *epsps* anlatım kasetine ek olarak, NK603 mısır çeşidindeki DNA parçası bir ucunda moleküler yeni düzenlemeler ve kloroplast DNA'sından bir parça içerir. Bu yeni düzenlemeler ve kloroplast DNA'sının girişi yeni bir özelliğe yol açmamakta ve sorun oluşturucu bir unsur olarak değerlendirilmemektedir. Kloroplast DNA'sının girişi sonucunda yeni bir peptit veya proteinin üretiminin son derece düşük bir olasılık olduğu ifade edilmekte ve biyoenformasyon analizleri bu proteinlerin bilinen toksin veya alerjenler ile dizi benzerliği göstermeyeceğini ortaya koymaktadır. Genin 3' ve 5' ucundaki DNA dizilerinin BLAST analizleri kloroplast DNA'sının girişi sonucunda endojen açık okunma çerçevelerinin bozulmadığını göstermiştir. NK603 mısır çeşidinin 9 jenerasyon boyunca (6 jenerasyon melezleme ve 3 jenerasyon kendileme olmak üzere) segregasyon verisi aktarılabak DNA'nın stabil olduğu ortaya koymuştur.

59122 x 1507 x NK603 mısır çeşidi genetik olarak modifiye edilmiş 59122, 1507 ve NK603 mısır çeşitlerinin klasik ıslah yöntemleri ile melezlenmesinden elde edilmiştir. Üçlü melezde herhangi bir genetik modifikasyon yapılmamıştır. 59122 x 1507 x NK603 mısır çeşidinde DNA "insert"lerinin moleküler yapısı Southern blot analizi ile araştırılmıştır. Bu durum 59122, 1507 ve NK603 "insert"leri için spesifik DNA problemlerinin kullanımını gerektirmiştir. 59122 x 1507 x NK603 mısır çeşidi ve 59122 mısır çeşidi arasında insert DNA'nın moleküler eşdeğerliliğini ve identik kopya sayısını doğrulamak üzere, üçlü melezin ve 59122 mısır çeşidinin genomik DNA örnekleri Sacl

enzimi ile kesilmiş, *cry34Ab1* ve *cry35Ab1* genlerine özgü proplar kullanılarak Southern blot analizleri gerçekleştirilmiştir. Aynı şekilde, 59122 x1507 x NK603 mısır çeşidi ve 1507 mısır çeşidi arasındaki insert DNA'nın moleküler benzerlik ve kopya sayısını doğrulamak üzere, üçlü melezin ve 1507 mısır çeşidinin genomik DNA örnekleri *Hind* III enzimi ile kesilmiş, *cry1F* ve *pat* genlerine özgü proplar kullanılarak Southern blot analizleri gerçekleştirilmiştir. Benzer durum, 59122 x 1507 x NK603 mısır çeşidi ve NK603 mısır çeşidi arasındaki eşdeğerlik CP4 *epsps* genine özgü probun *EcoRV* ile kesilmiş üçlü melezin ve NK603 mısır DNA'sının hibritlenmesi ile gerçekleştirilmiştir. Benzer çalışmalar *pat* geni için de 59122 x 1507 x NK603 mısır çeşidinin diğer anaçlar (59122, 1507, NK603) ile karşılaştırılmasıyla gerçekleştirilmiştir. Bu analizlerde *SacI* enzimi kullanılmıştır. Tüm bu analizler sonucunda üçlü melezdeki 59122, 1507 ve NK603 aktarılan DNA parçalarının (sağ ve sol sınır dizilerini de içerecek biçimde) yapılarının bozulmadan genomda yer aldığını ortaya koymuştur.

59122 x 1507 x NK603 çeşidinde *cry34Ab1*, *cry35Ab1*, *cry1F*, *pat* ve CP4 *epsps* genlerinin anlatımı için değişik zamanlarda ve değişik lokasyonlardan alınan kök, yaprak, tüm bitki, sap, çiçektozu ve tohumlar kullanılmıştır. Bu çalışmalarda anaçlardan da (59122, 1507, NK603) örnekler alınmıştır. Tüm örneklerden özütlenen proteinlerin miktarları ELISA tekniği ile ölçülmüştür. Protein üretimi bitkiye uygulanan herbisitten etkilenmemekle birlikte değişik lokasyonlarda ve zamanlarda ölçülen proteinlerin düzeyleri anaçlar da dâhil olmak üzere 59122 x 1507 x NK603 üçlü mezinde aynı seviyede bulunmuştur.

Tekli transformasyonlarda aktarılan DNA'nın (59122, 1507 ve NK603) genetik stabilitesi daha önce gösterilmiştir (EFSA, 2003a,b; 2004a; 2005a,b ve 2007b). Mısır üçlü mezinde 59122, 1507 ve NK603 "insert"leri kombine edilmiştir. Southern blot analizi, her üç transformasyonun gerçekleşerek her bir DNA yapısının bozulmadan mısır genomunda korunduğunu ortaya koymuştur.

6.2. Kimyasal Bileşimlerin ve Tarımsal Özelliklerin Değerlendirilmesi

59122 x 1507 x NK603 melez mısır çeşidinin elde edilme amacı temelde tarımsal performansın artırılmasıdır. Tarımsal verimlilik artırılırken melez mısırın yem amaçlı kullanım özelliklerinin değiştirilmesi amaçlanmamıştır. Kimyasal kompozisyon ve tarımsal özelliklerin risk analizi bu mantık üzerinden yapılmıştır.

6.2.1. Kimyasal bileşim

Avrupa'nın farklı mısır yetiştirme bölgelerinde ekolojik lokasyonlarda 2004 yılında 59122 x 1507 x NK603 melez çeşidi ile yapılan tarla denemelerinde yemlik özellikler ve tane ile ilgili veriler üzerinden, OECD (2002)'nin önerilerine uyumlu olarak, bileşim analizleri yapılmıştır. 59122 x 1507 x NK603 kontrol olarak kullanılan genetiği değiştirilmemiş ticari mısır çeşidi ile karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırmalar; yağ, protein, kül, nem, toplam karbonhidrat ve lif özellikleri; palmitik, stearik, oleik, linoleik yağ asitleri; amino asitler; kalsiyum, bakır, demir, magnezyum, manganez, fosfor, potasyum, sodyum, selenyum ve çinko gibi mineraller; E, B1, B2, folik asit, β-karoten gibi vitaminler ile fitik asit, rafinoz, anti-nutriens (trypsin inhibitor), inositol, furfural, p-kumarik asit, ferulik asit gibi parametreler üzerinden yapılmıştır. 59122 x 1507 x NK603 ile kontrol olarak kullanılan genetiği değiştirilmemiş ticari mısır çeşidi arasında söz konusu parametreler bakımından, herbisit uygulama rejimlerine bağlı olarak lokasyonlar arasında önemli farklılıklar saptanmıştır. Buna karşılık, her bir lokasyonda genetiği değiştirilmiş üçlü melez mısır çeşidi parametreleri ile genetiği değiştirilmemiş ticari mısır çeşidi parametreleri arasında farklılıklar gözlenmemiştir (OECD, 2003; ILSI, 2006).

Amerika'da, 59122 x 1507 x NK603 ile genetiği değiştirilmemiş ticari mısır çeşitlerinin materyal olarak yer aldığı tarla denemelerinden elde edilen tohumlar kullanılarak yapılan incelemeler bileşim farklılıkları olduğunu göstermiştir. Genetiği değiştirilmiş üçlü melez çeşitten elde edilen verilerin değişim sınırları, literatürde genetiği değiştirilmemiş ticari melez çeşitler için verilen değişim sınırları içinde kalmıştır (EFSA, 2009).

59122 x 1507 x NK603'de; Cry34Ab1, Cry35Ab1, Cry1F, PAT, CP4 EPSPS ve CP4 EPSPS L214P proteinleri dışında yeni yapılar sentezlenmemiştir. Bileşim analizleri sonucunda, bu üçlü melez mısırın kompozisyonunda herhangi bir değişimin olmadığı saptanmıştır (EFSA, 2009).

6.2.2. Tarımsal özellikler

Japonya'da, CryF1 hattı 1507 için 2001 yılında ve DAS-59122-7 için 2003 yılında izolasyonlu tarla koşullarında yapılan araştırmalarda tane rengi, tane şekli özellikleri yanında çok sayıda agronomik özellik incelenmiştir. DAS-59122-7, CryF1 hattı 1507 ile rekombinant olmayan mısır arasında bu iki tane özelliği açısından istatistik olarak önemli farklılık saptanmamıştır (Anonim, 2006). 59122 x 1507 x NK603 çeşidinin hayvan besleme değerinin klasik yöntemle geliştirilmiş ticari melez mısır çeşidinin hayvan besleme değerinden farklı olmadığı etlik piliçler ile yapılan deneysel araştırma sonuçlarıyla ortaya konulmuştur (Taylor ve ark., 2007). Amerika'da genetiği değiştirilmiş

melez 59122 x 1507 x NK603 ile genetiği değiştirilmemiş ticari mısır çeşitlerinin kullanıldığı tarla araştırmalarında agronomik farklılıklar belirlenmemiştir (EFSA, 2009).

Buna karşılık, Shiva (1993) dayanıklılık amacıyla genetik modifikasyonlar yapılmasının, entansif tarım koşullarında, yeni patojenlerin kendiliğinden ortaya çıkması için uygun ortam yaratacağını ileri surmektedir.

6.3. Toksisite Değerlendirmesi

Söz konusu genetiği değiştirilmiş üçlü melez mısırın genetik yapısında yer alan ana 59122'de anlatımı yapılan Cry34Ab1, Cry35Ab1 ve PAT proteinleri; ana 1507'de anlatımı yapılan Cry1F ve PAT proteinleri; ana NK603'de anlatımı yapılan CP4 EPSPS ve CP4 EPSPS L214P proteinleri daha önce toksikolojik açıdan güvenli olarak rapor edilmiştir (EFSA, 2003, 2004, 2005, 2007).

Bugüne kadar genetiği değiştirilmiş üçlü melez çeşide yeni bir gen daha aktarıldığı rapor edilmemiştir. Bu nedenle, toksikolojik değerlendirmeleri genetik yapısı değiştirilmiş anaçlar ya da bu anaçlar arasındaki tek melezler üzerinden yapmakta yarar vardır. Örneğin, genetik yapısı değiştirilmiş 1507 x 59122 tek melezinin taneleri ve bunun karşılığı klasik ışlah yöntemi ile geliştirilmiş ticari melez mısır çeşidinin taneleriyle ile 90 gün beslenen farelerde yeni sentezlenmiş Cry34Ab1, Cry35Ab1 ve Cry1F proteinleri arasında olası etkileşimler araştırılmıştır. Bu etkileşimlerin insan ve hayvan sağlığı için önemli olduğu düşünülmektedir. Genetiği değiştirilmiş tek melez mısırla beslenen fareler ve genetiği değiştirilmemiş ticari melez mısırla beslenen fareler arasında belirli sayıda söz konusu etkileşimlerin gerçekleştiği, bir başka söylemle farklılık olduğu istatistiksel olarak saptanmıştır.

59122 x 1507 x NK603 melez çeşidin gen ürünleri arasında etkileşimler ve negatif sinerjetik etkilerin beklenmediği; Cry34Ab1, Cry35Ab1 ve Cry1F proteinlerinin enzim olmadıkları ve bu nedenle de bitki metabolizmasını etkilemeyecekleri açıklanmıştır. Benzer Şekilde, PAT ve CP4 EPSPS proteinlerinin de bu melezin metabolizmasını etkilemeyeceği bildirilmiştir (Anonim, 2006).

Fransa'da yapılan bir araştırmada ise, *cry3Bb1* geni aktarılmış, kök kurduna dayanıklı transgenik mısır çeşidi ve klasik mısır çeşidinden oluşan kontrol çeşidi ile beslenen farelere 90 günlük besleme denemesi yapılmıştır. Karaciğer, böbrek, pankreas ve beyin gibi organlarda hepatorenal toksisite parametreleri ve vücut ağırlıkları cinsiyetlere göre iki grup halinde irdelenmiştir. Veriler cinsiyete göre önemli farklılık göstermiştir. Trigliserit değerlerinin dişilerde % 24-40 oranında arttığı; erkeklerin ise böbreklerinde ürün fosfor ve sodyum değerlerinin % 31-35 oranında azaldığı

belirlenmiştir. Araştırmacılar çalışmalarının sonunda, inceledikleri transgenik mısır çeşidinin güvenli bir ürün olmadığını vurgulamışlardır (Seralini ve ark., 2007). Farelerde üç temel transgenik mısır çeşidi (NK 603, MON 810 ve MON 863) ile yapılan bir başka karşılaştırmalı besleme analizinde kan ve organlara ilişkin veriler değerlendirilmiştir. Araştırmada, cinsiyete ve dozlara bağlı olarak, transgenik mısır ile beslenen farelerde yeni yan etkilerin ortaya çıktığı belirtilmiştir. Yan etkiler özellikle karaciğer (albumin %-7, albumin / globulin oranı %-10) ve böbrek (ürin kreatinin %+42, potasyum %+13) gibi toksisite ile doğrudan ilgili organlarda belirlenmiştir. Bunların dışında, kalp, adrenal salgı bezleri, dalak ve hematolojik sistemde de bazı önemli etkiler görülmüştür. Araştırma sonunda, hepatorenal toksisitenin, genetik yapısı değiştirilmiş mısırlardaki glifosata ve böceklere dayanıklılığı sağlayan genlerden (CP4 *epsps*, *cry1Ab* ve *cry3Bb1*) kaynaklandığı vurgulanmıştır (de Vendoimo ve ark., 2009).

6.4. Alerjenite Değerlendirmesi

Gerçekte mısır ile beslenmede alerjik etki frekansı çok düşüktür ve alerjik etkiler genellikle belirli coğrafyalarda gözlenmektedir. 59122 x 1507 x NK603 melez çeşidin yapısında yer alan Cry34Ab1, Cry35Ab1, Cry1F, PAT, CP4 EPSPS ve CP4 EPSPS L214P proteinlerinin alerjenik etki olasılıklarının bulunmadığı çeşitli raporlarda bildirilmiştir (EFSA, 2003a.b; EFSA, 2004a; EFSA, 2005a,b ve EFSA, 2007b). Cry34Ab1, Cry35Ab1, Cry1F, PAT ve CP4 EPSPS proteinlerinin bilinen alerjik proteinler ile amino asit dizisi homolojisi taşıdığı kanıtlanmamıştır (Meyer, 1999 ve Song, 2003).

Rekombinant proteinler, kaynağı ve yapısına bağlı olarak değişmekle birlikte, genellikle potansiyel alerjenler olarak değerlendirilmektedir. Her yeni yem için ayrı değerlendirme yapılmalıdır. Diğer bir genetik yapısı değiştirilmiş melez mısır çeşidi MON 88017 x MON 810 üç yeni gen (CP4 *epsps*, *cry1Ab* ve *cry3Bb1*) içermekte olup, yapılan analizler sonucunda bu genlerin alerji ile ilgili olarak herhangi bir sorun oluşturmadıkları, bu nedenle alerjik bir yem olarak değerlendirilmemesi gerektiği vurgulanmıştır (EFSA, 2009).

Genetik yapısı değiştirilmiş ürünlerin potansiyel alerjen olması iki şekilde açıklanmaktadır. Birincisi, transgenik üründe sentezlenen yeni protein, yeni bir alerji kaynağı olabileceği gibi, diğer alerjenlerle etkileşime girerek duyarlı kişilerde etkili olabilir. İkinci olasılık ise, genetik yapısı değiştirilmiş ürünün aslında var olan alerjenitesi, bu genetik değişikliklerle farklı biçime dönüşebilir (Kleter ve Peijnenburg, 2006; Prescott ve Hogan, 2006). Her yeni proteinde olduğu gibi genetik yapısı değiştirilmiş ürünlerde de ayrıntılı biçimde alerjenite testleri yapılmalıdır. Aktarılan yeni genin kaynağının alerji ile ilgili geçmişi irdelenmeli, bu genin oluşturduğu proteinin biyokimyasal yapısı

bilinen alerjenlerle karşılaştırılmalıdır. Ürünü kullanacak olanın alerji ile ilgili sorunu biliniyorsa, genetik yapısı değiştirilmiş ürünlerin kullanılması durumunda, potansiyel alerjenite mutlaka dikkate alınmalıdır (Kleter ve Kok, 2010).

6.5. Genetik Değişiklikten Kaynaklanabilecek Beklenmeyen Etkiler

Genetik yapısı değiştirilmiş bitkilerde, aktarılan hedef genlerin oluşturduğu özellikler dışında, geliştirildiği anacından farklı olarak meydana gelen fenotipik, tepkisel ve yapısal değişikliklere, beklenmeyen etkiler denilmektedir. Beklenmeyen etkilerin bazıları tahmin edilebilmekle birlikte, genellikle önceden tahmin etmek mümkün değildir (Cellini ve ark., 2004; Kleter ve Kok, 2010). Beklenmeyen etkiler, genetik yapısı değiştirilmiş ürünün güvenliğini yakından ilgilendiren bir olaydır. Önceden tahmin edebilmek için, gen aktarılacak bitkinin genomik yapısının bilinmesi kadar, aktarılan DNA'nın moleküler yapısının bilinmesi de büyük önem taşımaktadır (Craig ve ark., 2008). Bu etkiler sonucu ortaya çıkan yeni özelliklerin insan ve hayvan sağlığı bakımından risk oluşturmadığı bildirilmektedir (OECD, 2000; FAO/WHO, 2000; Jonas, ve ark., 2001; Van den Eede, 2004). Genetik yapısı değiştirilmiş bitkilerde modifikasyonlar arttıkça beklenmeyen etkilerin oranı da artmaktadır. Yapılan genetik değişikliğin karmaşıklığı beklenmeyen etkileri teşvik etmektedir (Kleter ve Kok, 2010).

Amerika'da, 59122 x 1507 x NK603 ile genetiği değiştirilmemiş ticari mısır çeşitlerinin materyal olarak yer aldığı tarla denemelerinden elde edilen tohumlar kullanılarak yapılan incelemeler bileşim farklılıkları olduğunu göstermiştir. Genetiği değiştirilmiş üçlü melez çeşitten elde edilen verilerin değişim sınırları, literatürde genetiği değiştirilmemiş ticari melez çeşitler için verilen değişim sınırları içinde kalmıştır (EFSA, 2009). 59122 x 1507 x NK603'de; Cry34Ab1, Cry35Ab1, Cry1F, PAT, CP4 EPSPS ve CP4 EPSPS L214P proteinleri dışında yeni yapılar sentezlenmemiştir. Bileşim analizleri sonucunda, bu üçlü melez mısırın kompozisyonunda herhangi bir değişimin olmadığı saptanmıştır (EFSA, 2009).

Wahl ve ark. (1984), transgenik organizmanın genomuna eklenmiş olan DNA'nın kromozomun yapısını bozacağını, kromozomların yeni bir düzenlemeye gitmelerine neden olabileceğini ve gen fonksiyonları etkilebileceğini açıklamışlardır. Bu açıklama, bir organizmaya başka bir organizmadan aktarılan genetik materyalin mevcut genetik materyallerle allelik olmayan gen interaksyonlarına girmesi durumunda önceden kestirilmeyen birtakım sonuçları da zaman içinde ortaya çıkabileceğine işaret etmektedir. Ancak diğer bir genetiği değiştirilmiş melez mısır çeşidi MON 88017 x MON 810 tanelerinde, alanin, linoleik asit, araşidik asit ve ferulik asit bakımından önemli artışlar; eikosanoik asit, bakır, potasyum ve B2 vitamini yönünden ise önemli azalmalar

belirlenmiştir (EFSA, 2009). Bitki genomlarına yeni bir genetik materyal aktarıldığında, aktarılan bölgedeki değişiklik nedeniyle bitkinin fenotipinde ya da kimyasal yapısında beklenmeyen değişikliklerin oluşabileceği bilinmektedir (Cellini, 2004; Latham ve ark., 2006; Rischer ve Oksman-Caldentey, 2006).

Allelik olmayan gen interaksyonları ve çevre ile olabilecek interaksyonlar nedeniyle yeni genotipin patojenlerle ilişkileri ve çeşitli kimyasal savaşım araçlarına olan tepkimelerinde de değişiklik arz edebilecektir.

6.6. Çevresel Risk Değerlendirmesi

59122 x 1507 x NK603 mısır çeşidiyle ilgili başvuru, yalnızca yem amaçlı ithalat için yapılmıştır. Dolayısıyla çevre ve biyoçeşitliliğe ilişkin risk analizleri, taşıma ve yem amaçlı işleme sürecinde istem dışı çeşitli yollarla çevreye yayılma ile sınırlı tutulmuştur. Gen geçişinin potansiyel kaynakları tohum ve çiçek tozu olarak bilinmektedir. Mısır tohumlarının doğaya istem dışı taşınmalarının depolama, yem işleme ve nakliye gibi süreçlerde ya da hayvanlar aracılığıyla gerçekleşebileceği düşünülmektedir.

Değişik zaman dilimlerinde ve bölgelerde gerçekleştirilen tarla denemeleri, genetik olarak değiştirilmiş 59122 x 1507 x NK603 mısır çeşidinin, genetiği değiştirilmemiş ticari melez mısır çeşidi (kontrol) ile karşılaştırıldığında canlılık, üreme ve yayılma özellikleri bakımından herhangi bir fark göstermediğini ortaya koymuştur.

59122 x 1507 x NK603 melez mısır çeşidinin çevresel risk değerlendirilmesi; hedef dışı organizmalara etkisi ve istenmeyen gen geçişleri olmak üzere iki başlık altında gerçekleştirilmiştir.

6.6.1. Hedef dışı organizmalara etkisi

Böceklere karşı Cry proteinini içeren tüm transgenik bitkiler, çevrelerinde bir başka organizmayı da etkileyebilirler. Bu nedenle, transgenin hedefi, bir zararlı ya da patojen olabileceği gibi, hedef dışı organizmalar da olabilmektedir. Böceklere dayanıklı çeşitlerin etkilediği hedef dışı organizmalar 5 grupta toplanmaktadır (OECD, 2007; Sanvido ve ark., 2007);

- yararlı türler (zararlıların doğal düşmanları ve tozlayıcılar)
- toprak organizmaları
- hedef dışı otçullar

- tehlikesiz ve nötr türler
- lokal çeşitliliğe katkıda bulunan diğer türler

59122 x 1507 x NK603 üçlü melez mısır çeşidinde ekim söz konusu olmadığından sadece tane olarak çevresel etkisi irdelenmiştir. Bu durumda, etkilenen hedef dışı organizmalar olarak tane ve tane ürünleriyle beslenebilen böcekler ön plana çıkmaktadır. Transgenik bitkilerde *cry* genleri tarafından üretilen aktif toksinler hedef organizmaların barsağındaki epitelyum hücrelerinin plazma zarında bulunan özel reseptörlere bağlanırlar (Bravo ve ark., 2007; OECD, 2007). Toksin, plazma zarına girerek önce zar içinde gözenekler daha sonra iyon kanalları oluşturarak tahribat yapar. Bu zar girişi işleminin biyokimyasal yapısı tam olarak anlaşılammıştır. Bazı Cry proteinlerinin çoklu reseptörlere sahip olduğu, tek reseptör üzerinde birden çok bağlantı yaptığı ya da toksisite için reseptör bağlantısının gerekli fakat yeterli olmadığı gibi konularda değişik görüşler bulunmaktadır (Aronson ve Shai, 2001; OECD, 2007). Ayrıca, Cry proteinleri ile hedef organizmalar arasında etkileşim olduğu da bilinmektedir (Aronson ve Shai, 2001; Zhang ve ark., 2006). Hedef dışı organizmaların larvaları ve erginleri ile yapılan testler sonucunda; *Apis mellifera* (bal arısı) larvaları, Koleoptera takımından *Hippodamia convergens* (hanım böceği) ve Neuroptera takımından *Chrysoperla carnea* (yeşil dantel kanat) predatörleri, Hymenoptera takımından *Nasonia vitripennis* paraziti gibi birçok böcek türünde Cry proteininin önemli bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir (OECD, 2007).

Hedef dışı organizmaların olumsuz etkilerine ilişkin de birçok araştırma yapılmış ve sonuçları tartışılmıştır. Cry proteini, transgenik bitkileri tüketen hedef organizmalar için doğrudan, bu proteinin bulaştığı diğer ürünleri tüketen hedef dışı organizmalar için dolaylı etki göstermektedir. Amerika'nın önemli böcek türlerinden olan kral kelebekleri üzerine yapılan bir araştırmada, üzeri transgenik mısır çeşitlerinin çiçek tozları ile kaplı yaprakları yiyen larvaların zarar gördüğü belirtilmiştir (Losey ve ark., 1999). Ayrıca, hanım böceği ve dantel kanat gibi böcek türlerinin öldüğünü bildiren araştırmalar da bulunmaktadır (Hilbeck ve ark., 1998). Bu araştırmalar, Cry proteinlerinin dolaylı toksik etkisini göstermesi bakımından önemlidir. Hedef dışı böceklerin genetik yapısı değiştirilmiş organizmalardan etkilenmesine ilişkin kapsamlı bir çalışma yapan Naranjo (2009), toplam 360 araştırma makalesini laboratuvar ve tarla denemeleri olarak meta analizi ile irdlemiştir. Bu konuda yapılan tüm laboratuvar çalışmaları değerlendirildiğinde, hedefi olmayan böceklerin Cry proteinleri ile karşılaştıklarında, bir kısmının dayanıklı bir kısmının ise dayanıksız olduğu belirlenmiştir. Zararlıların doğal düşmanları olan böceklerin, Cry proteinlerinin etkisinde kalmaları halinde, özellikle predatörlerin gelişim oranlarında istatistiksel açıdan önemli düzeyde azalma olduğu belirlenmiştir. Ancak, Cry proteinlerinin bu böceklerin canlılıklarına herhangi bir olumsuz etkisi belirlenmemiştir. Üreme oranında belirlenen azalmalar ise istatistiksel olarak önemli düzeyde bulunmamıştır. Önemli artropodlardan olan arılar, kral kelebekleri ve ipek böcekleri gibi

canlıların ve transgenik bitkilerin özel hedefi olmayan otçul böcekler ve tozlayıcı böceklerin de Cry proteinlerine farklı tepki gösterdikleri belirlenmiştir. Otçul zararlıların gelişmelerinde ve canlılıklarında önemli düzeyde azalma görülmesine karşın, tozlayıcılar bu öğeler bakımından Cry proteinlerinden etkilenmemişlerdir. Bu konuda yapılan tüm alan denemeleri irdelendiğinde ise, zararlılarla mücadelede önemli bir yeri olan doğal düşmanların Cry proteinlerinden istatistiksel açıdan önemli ölçüde olumsuz yönde etkilendiği; transgenik mısır alanlarında doğal düşmanların belli oranda azalmasına karşın bu azalmanın istatistiksel açıdan önemli olmadığı belirlenmiştir. Araştırmalar, çalışmanın yapıldığı laboratuvar ya da alan denemelerine göre de hedef olmayan organizmaların tepkilerinin farklı olduğunu göstermektedir. Ayrıca, kontrolü daha iyi sağlandığından, laboratuvar çalışmalarının alan denemelerine oranla güvenilirliğinin yüksek olduğu bildirilmiştir (Naranjo, 2009).

6.6.2. Bitkiden bitkiye gen geçişleri

59122 x 1507 x NK603 melez mısır çeşidinin diğer mısır çeşitleri arasındaki yabancı dölleme özelliği nedeniyle esas olarak taşıma ve işleme sırasında tohumların istem dışı salınımı ile söz konusu olabilir. Avrupa Kıtası'nda seksüel olarak uyumlu Mısır'ın yabani akrabalarının bulunmayışı mısır bitkileri arasında gerçekleşecek dikey gen transfer olasılığının çok sınırlı düzeyde olduğunu ortaya koymaktadır (OECD, 2002). Genetiği değiştirilmiş bitkilerin nadiren de olsa taşıma ve işleme sırasında tohumların istem dışı salınımı ile çiçeklenmesi ile önemli düzeyde mısır çiçektozlarının diğer genetiği değiştirilmemiş mısır bitkilerini tozlaması çok mümkün görünmemektedir.

Mısır, genellikle tarımsal alanlar dışında kendiliğinden yetişmeyen bir bitkidir. Herbisite dayanıklılık özelliği, genetiği değiştirilmiş mısır çeşitlerine amonyum glufosinat ve/veya glifosat içeren herbisitler uygulandığı durumlarda seçici bir avantaj sağlayabilir. Benzer şekilde, Coleoptera takımına ve Lepidoptera takımına bağlı bazı zararlı türler için dayanıklılık, bu zararlıların bulunduğu yetiştirme koşullarında potansiyel bir avantaj sağlar. Bununla beraber, Avrupa dışında yetiştirilebilmesi; dormansi evresinin yokluğu, hastalıklara duyarlılık ve soğuk iklim koşulları nedeniyle sınırlıdır. 59122 x 1507 x NK603 melez mısır çeşidi için de bu genel karakteristikleri değişmediğinden, herbisit dayanıklılığı ve böcek direncinin Avrupa'da yetiştirme dışında seçici avantajlar ortaya koyma olasılığı son derece düşüktür. Bundan dolayı, diğer mısır çeşitleri gibi 59122 x 1507 x NK603 melez mısır çeşidi Avrupa'da sıcak bölgelerde uygun mevsimlerde hayatta kalabilecektir. Avrupa'daki çevresel koşullar altında yabani populasyonlar oluşturması son derece düşük bir ihtimaldir. NK603, 1507 ve 59122 anaç mısır çeşitlerinin tarla denemelerine ek olarak (EFSA, 2003a,b; 2007b), genetiği değiştirilmiş 59122 x 1507 x NK603 mısır çeşidinin tarla denemeleri 2003 yılında 1 lokasyon Kanada ve 5 lokasyon Amerika olmak üzere toplam 6

lokasyonda gerçekleştirilmiştir. Tarla denemelerinden elde edilen sonuçlar ve literatür araştırması genetiği değiştirilmiş 59122 x 1507 x NK603 mısır çeşidinde yaşamsal kapasitesinde, çoğalma ve yayılma karakteristiklerinde amonyum glufosinat ve/veya glifosat içeren herbisitler uygulandığında ve/veya hedef organizmaların varlığı gibi durumlar dışında herhangi bir değişimin olmadığını ortaya koymaktadır.

59122 x 1507 x NK603 üçlü melez mısır çeşidi tarım amaçlı kullanılmayacağından, bitkiden-bitkiye gen geçişleri riski, taşıma ve yem amaçlı işleme esnasında kazayla çevreye yayılma ile sınırlı tutulmuştur. Bitkiden bitkiye gen geçişlerinin potansiyel kaynaklarının tohum ve çiçek tozu olduğu bilinmektedir. Mısır tohumlarının doğaya yayılması hayvanlar aracılığı ile olabileceği gibi, yem işleme ve nakliye süreçleri sırasında da gerçekleşebilir.

Transgenik çeşitlerden diğer çeşit ve türlere doğrudan gen geçişleri üzerinde de farklı görüşler vardır. Bilindiği gibi, transgenik mısır çeşitleri (*Zea mays ssp. mays*) ile yabani mısır çeşitleri (*Zea mays ssp. mexicana*), yakın akraba olduklarından, genetik olarak uyum sağlarlar. Bu nedenle, çiçektozu aracılığı ile gen geçişlerinin mümkün olduğu ancak, izolasyon mesafesine dikkat edildiği sürece, bunun bir sorun oluşturmadığı belirtilmektedir. Örneğin, transgenik mısır çeşitlerinin yaygın olarak yetiştirildiği ABD ve Kanada'da yabani mısır çeşidi bulunmadığından, bu ülkelerde riskin söz konusu olmadığı vurgulanmaktadır (Anonim, 2009). Ancak, sorun sadece yabani gen kaynakları ile sınırlı değildir. Mısır bitkileri yabancı döllenene ve çiçek tozlarını canlı olarak çok uzak mesafelere gönderebilen bitki türlerindedir. Bu nedenle, transgenik çeşitlerden klasik kültür çeşitlerine de gen geçiş olasılığı çok yüksektir. Örneğin, Teksas'da son derece korumalı koşullarda yetiştirilen organik mısır çeşidi "Terra Prima"ya, çiçek tozu aracılığı ile transgenik mısır özellikleri geçtiğinden, ürünün tamamı toplatılarak yok edilmiştir (Bett, 1999).

6.6.3. Bitkiden bakteriye gen geçişleri

Güncel bilimsel veriler (EFSA, 2004b ve EFSA, 2007a), doğal koşullar altında genetiği değiştirilmiş bitkilerden mikroorganizmalara gen geçişi olasılığının son derece düşük olduğunu ortaya koymaktadır. 59122 x 1507 x NK603 mısır çeşidinden üretilen yemlerde bulunan transgenlerin, insan ve hayvanların sindirim sistemlerinde bulunan mikroorganizmalarla karşılaşma riski bulunmaktadır. Mikrobiyel kökenleri ve yapıları göz önüne alındığında *cry1F*, *cry34Ab1/cry35Ab1*, CP4 *epsps* ve *pat* genlerinin doğada ve sindirim sisteminde sürekli seleksiyon baskısı yapmaması nedeniyle bakterilere yatay geçiş olasılığının son derece düşük olduğu belirtilmektedir. Transgenin, son derece olağan dışı bir şekilde aktarılması durumunda bile, insan ve hayvanlara zararlı olması beklenmemektedir (EFSA 2009). Transgenik mısır bitkisinin, taşıma ve yem amaçlı işleme esnasında kazayla ya da bu ürün ile beslenen hayvanların sindirim sisteminden dışarı ile çevreye

doğrudan ya da dolaylı olarak yayılan Cry proteinlerinin toprak organizmalarına olan etkisi irdelendiğinde, transgenlerin antibiyotiğe dayanıklılık ve toksisite oluşturan özellikleri dikkat çekmektedir. Antibiyotiğe dayanıklı bir çok bakterinin, transgenik gıdalar tüketilmediği zaman da ortaya çıkabildiği bilinmektedir (Salyers, 1997; Smalla ve ark., 1997). Hastanelerde, çevrede ve gıdalarda birden fazla ilaca dayanıklı bakterilerin bulunması (Perreten ve ark., 1997), transgenik bitkilerin antibiyotiğe dirençli bakteri geliştirmede yeni bir gen havuzu oluşturmadığını göstermektedir (Anonim, 2009). Amerika ve Fransa'da 1994 ve 1995 yıllarında yapılan tarla araştırmalarında ise, transgenik bitkilerin hedef dışı organizmalara olumsuz etkilerinin olmadığı ve popülasyondaki miktarlarının klasik çeşitlere oranla farklılık göstermediği belirlenmiştir (Anonim, 2009). Bu proteinlerin sindirim sisteminde enzimlerle parçalanması, transgen özelliğinin kaybolmasının (Anonim, 1988) yanında hayvan dışkılarında miktarlarının da düşük olmasını sağlamaktadır. Ayrıca, dışkılarıdaki mikrobiyel işlemler de bu proteinlerin çevreye yayılmalarını önlemede etkili olmaktadır. Topraktaki kil mineralleri tarafından Cry proteinlerinin tutulması da yayılmayı önleyen bir başka faktör olarak bilinmektedir. Bu nedenlerden dolayı, transgenik bitkilerden geçen Cry proteinlerinin toprakta birikmesi mümkün görülmemektedir (EFSA, 2009).

Chowdhury ve ark. (2003) ise, genetik yapısı değiştirilmiş StarLink CBH351 mısır çeşidi ile 8 domuzda ve genetik yapısı değiştirilmemiş mısır ile de 8 domuzda yaptıkları besleme denemesi sonucunda; domuzların sindirim sisteminde rekombinant *cry9C* ve *zein* araştı genlerini, rektal bölgede, sırasıyla, %25-37.5 (242 ya da 329 baz çifti) ve %31.3 (242 ya da 329 baz çifti) saptadıklarını açıklamışlardır. Duggan ve ark. (2003), böceklere dayanıklılık geni, *cryIA(b)*, aktarılmış mısır taneleri ve mısır silajı kullanılarak yapılan koyun beslenme denemelerinde; genetik yapısı değiştirilmiş mısır taneleri ile beslenen koyunlardan 5 saat sonra alınan rumen sıvısında, *cryIA(b)* geninin etkin olarak bulunduğunu saptamışlardır. Deaville ve Maddison (2005), Broiler cinsi tavukların kanında, dokularında ve sindirim sistemlerinde transgenik ve endojen DNA parçalarını araştırmıştır. Bu amaçla kurdukları beslenme denemesinde, materyal olarak genetik yapısı değiştirilmemiş mısır tanelerini ve *cry1a(b)* geni taşıyan genetik yapısı değiştirilmiş mısır tanelerini kullanmışlardır. Transgenik mısır diyeti ile yapılan son beslenmeden 96 saat sonra yapılan incelemelerde, taşlıkta transgenik DNA saptamışlardır. Buna karşılık, bağırsaklarda böyle bir duruma rastlamamışlardır. Agodi ve ark. (2006), oniki farklı markaya ait 60 süt örneği üzerinde yaptıkları araştırma sonucunda 15 örnekte genetik yapısı değiştirilmiş mısıra ait DNA dizilerinin varlığını saptamışlardır.

Ancak, bu verilerin aksini gösteren araştırmalar da bulunmaktadır. Örneğin, genetik yapısı değiştirilmiş organizmalardaki Cry proteininin, topraktaki kil mineralleri tarafından tutularak mikrobiyel işlemlerden korunmakla birlikte, tutulduğu sürece insektisidal aktivitesini sürdürdüğü

(Koskella and Stotsky, 1997; Crecchio ve Stotsky, 1998; OECD, 2007) ve tarlada yarılanma ömrünün 9-40 gün arasında olduğu (Marchetti ve ark., 2007; Accinelli ve ark., 2008) bildirilmiştir. DNA'nın ölü bitki dokularında, hücre duvarları aracılığı ile, en az birkaç gün, geçiş özelliğini koruyacak biçimde kalabildiği bilinmektedir (Nielsen ve ark., 2000). Bu süre içerisinde topraktaki transgenik bitki parçalarından toprak mikroorganizmalarına transgenler geçebilmektedir (Paget ve Simonet, 1997). Araştırmalar, bitki DNA'sının, toprağın yapısına, pH'sına, nemine ve mikrobiyel aktivitesine bağlı olarak, birkaç saatle birkaç gün içerisinde toprak bakterilerine geçebileceğini göstermektedir (Anonim, 2009).

Transgenik DNA'nın, tarla koşullarında çiçektozu aracılığı ile arı larvalarının bağırsaklarındaki bakterilere (Bergelson ve ark., 1998); laboratuvar koşullarında ise toprak bakteri ve mantarlarına geçtiğine (Schluter ve ark., 1995) ilişkin çok sayıda araştırma bulunmaktadır. Bitki ve bakteri arasındaki yatay gen geçişleri, transgenik bitkilerdeki antibiyotiğe dayanıklılık geninin bakterilere geçme olasılığı nedeniyle önemli bir risk oluşturmaktadır (Bergmans, 1993; Rissler ve Mellon, 1993). Antibiyotiğe dayanıklı markör genlerin, transgenik bitki yaprağından toprak bakterisi *Acinetobacter*'e kolaylıkla geçebildiği bilinmektedir (De Viries ve Wackernagel, 1998; Gebhard ve Smalla, 1999). Bu nedenlerle, transgenik bitkilerde antibiyotiğe dayanıklılığı sağlayan bazı markör genlerin kullanımı birçok AB üyesi ülkede yasaklanmıştır. Görüldüğü gibi, yatay gen geçişlerinin olabileceği birçok araştırmacı tarafından kabul edilmektedir. Ancak bunların etkileri konusunda farklı görüşler söz konusudur.

7. GENEL SONUÇ ve ÖNERİLER

Üç Numaralı Bilimsel Risk Değerlendirme Komitesi, Coleoptera ve Lepidoptera takımlarına bağlı bazı zararlı türlere dayanıklılığın (*cry34Ab1*, *cry35Ab1*, *cry1F*) ve glufosinat amonyum ve glifosat içeren herbisitlere toleransın (*pat*, CP4 *epsps*) sağlanması amacı ile genetiği değiştirilmiş 59122 x 1507 x NK603 mısır çeşidinin yem amaçlı ithal edilmesinin risklerini değerlendirmiştir. 59122 x 1507 x NK603 çeşidine biyoteknolojik yöntemlerle aktarılan genlerin yapısı, DNA dizilimi, promotör ve terminatör bölgeleri, gen anlatım düzeyleri, ekstra DNA dizileri ve gen aktarım yöntemi ayrıntılı olarak incelenmiştir.

Bu çeşitle ilgili değerlendirme; başvuru dosyasında yer alan dokümanlar, risk değerlendirmesi yapan çeşitli kuruluşların (EFSA, JRC/CRL-GMFF, WHO, FAO, FDA ve Japonya Çevre Bakanlığı) görüşleri ve bilimsel araştırmaların sonuçlarını içeren makaleler (alerjik ve toksik etki analizleri, genetik modifikasyonun stabilitesi, hedef dışı organizmalara etkisi vb.) ile farklı ülkelerde kullanım durumları göz önünde bulundurularak yapılmıştır. Yine bu genetiği değiştirilmiş çeşitle yapılan

hayvan besleme çalışmaları incelenerek yalnızca yem olarak kullanımı sonucu ortaya çıkabilecek riskler değerlendirilmiştir. Ek olarak bu mısır çeşidinin ülkemizde istem dışı yayılması durumunda ortaya çıkabilecek biyoçeşitliliği tehdit etmesi olası çevresel riskler göz önünde bulundurulmuştur.

Üç Numaralı Risk Değerlendirme Komitesi;

- Coleoptera takımına bağlı zararlılara dayanıklı ve glufosinat amonyuma toleranslı 59122, Lepidoptera takımına bağlı zararlılara dayanıklı ve glifosata toleranslı 1507 ve glifosata toleranslı NK603'in melezlenmesi ile elde edilen ve bu özelliklerin tümünü içeren melez mısır çeşidinde (59122 x 1507 x NK603), her bir gen için gerçekleştirilen transformasyon ve sonrasındaki integrasyonun stabil olduğu aktarılan DNA parçalarının yapılarının bozulmadan genomda yer aldığı,
- 59122 x 1507 x NK603 üçlü melez mısır çeşidinin genetiği değiştirilmemiş ticari mısır çeşidi ile benzer yemlik özelliklere ve bileşime sahip olduğu, ancak herbisit uygulama rejimlerine bağlı olarak farklı çevre koşullarının etkili olabileceğinin göz ardı edilmemesi gerektiği,
- aktarılan genlerin moleküler yapı ve anlatım analizlerinden, NK603, 1507 ve 59122 mısır anaçları arasında yapılacak melezleme çalışmaları sırasında söz konusu genlerin birbirleriyle etkileşim içine girerek tarımsal değişikliklere neden olabilecek yeni proteinlerin sentezlenmesine yol açmayacakları; 59122 x 1507 x NK603 üçlü melez mısır çeşidinin toksisite yönünden genetik olarak değiştirilmemiş eşdeğeriyle benzer olduğu,
- 59122 x 1507 x NK603 üçlü melez mısır çeşidinin alerjenite yönünden genetik olarak değiştirilmemiş eşdeğeriyle benzer olduğu, ancak potansiyel alerjenitenin göz ardı edilmemesi gerektiği,
- bir organizmaya başka bir organizmadan aktarılan genetik materyalin mevcut genetik materyallerle allelik olmayan gen interaksiyonlarına girmesi durumunda, önceden kestirilmeyen birtakım sonuçları da zaman içinde ortaya çıkabileceği; allelik olmayan gen interaksiyonları ve çevre ile olabilecek interaksiyonlar nedeniyle yeni genotipin patojenlerle ilişkileri ve çeşitli kimyasal savaşım araçlarına olan tepkimelerinde de değişiklik olabileceğinin göz önünde tutulması gerektiği,
- mısırın yabancı dölllenme özelliği nedeniyle, yayılacak genlerin çevresel etkileri açısından genetik yapısı değiştirilmiş üçlü melez mısır çeşidi ile genetik yapısı değiştirilmemiş ticari melez çeşitleri ve anaçlar olan 59122, 1507 ve NK603 arasında fark olmadığı; ancak hedef dışı organizmalara istem dışı yollarla gen geçişlerinin olabileceği, kullanım amacının yemlik olması nedeniyle bu konunun ikinci planda kalabileceği, fakat çeşitli deney hayvanların endojen ve transgenik DNA parçalarını çeşitli yollarla doğaya salabilecekleri,

sonucuna varmıştır.

Yukarıdaki açıklamaların ışığında genetiği değiştirilmiş 59122 x 1507 x NK603 üçlü mısır melez çeşidinin ‘**yalnızca yem olarak**’ kullanılmasının uygun olduğu kanısına varmıştır.

8. RİSK YÖNETİMİ

Risk yönetiminin planlanması ve bu planının uygulanması “Risk Değerlendirme Komitesi”nin sorumluluğu dışındadır. 59122 x 1507 x NK603 mısır çeşidine ait tohumların taşınma ve işlenmesi sırasında istem dışı çevreye yayılması sonucu olası çevre ve biyoçeşitliliğe ilişkin riskler ortaya çıkabilir. Bu durumda, 5977 sayılı “Biyogüvenlik Kanunu”, ilgili yönetmelikleri ve Biyogüvenlik Kurulu kararları uyarınca;

- a) geçerlilik süresi
- b) ithalatta uygulanacak işlemler
- c) kullanım amacı
- ç) risk yönetimi ve piyasa denetimi için gerekli veriler
- d) izleme koşulları
- e) belgeleme ve etiketleme koşulları
- f) ambalajlama, taşıma, muhafaza ve nakil kuralları
- g) işleme, atık ve artık arıtım ve imha koşulları
- ğ) güvenlik ve acil durum tedbirleri
- h) yıllık raporlamanın nasıl yapılacağı

hususunda belirtilen konulara titizlikle uyulmalıdır.

Bunlara ek olarak, bu çeşidin ürünleri ile beslenen hayvanların ve ürünlerinin periyodik olarak kontrol edilmesinin izleme kapsamına alınmalıdır.

9. KAYNAKLAR

Accinelli, C., Koskinen, W.C., Becker, J.M. and Sadowsky, M.J., 2008. Mineralization of the *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac endotoxins in soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56: 1025-1028.

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

Anonim, 1988. Guidance for the registration of pesticide products containing *Bacillus thuringiensis* as an active ingredient. NTIS PB 89-164198.

- Anonim, 2006. GM Crop Database; <http://cera-gmc.org/docs/decdocs/06-283-014.pdf>, Japanese Biosafety Clearing House, Ministry of Environment.
- Anonim, 2009. MON 810 Environmental risk assessment case study. www.agbios.com/cstudies.php?book=ESA&ev=MON810.
- Aronson, A.I and Y. Shai. 2001. Why *Bacillus thuringiensis* insecticidal toxins are so effective: unique feature of their mode of action. Mini Review. *FEMS Microbiol. Letters*, 195: 1-8.
- Bett, K.S., 1999. Mounting Evidence of genetic pollution from GE crops growing evidence of widespread GDO. www.purefood.org/ge/gepollution.cfm.
- Bergelson J, Stahl E, Dudek S, Kreitman M (1998) Genetic variation within and among populations of *Arabidopsis thaliana*. *Genetics*, 148, 1311–1323.
- Bergmans, H., 1993. Acceptability of the use of antibiotic resistance genes as marker genes in transgenic plants. P. 106-108. In: OECD Report on the Scientific Approaches for the Assessment of Research Trials with Genetically Modified Plants. April 6-7, 1992. Jouy-en-Josas.
- Bravo A, Gill S, Soberon M.2007. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. *Toxicon* 49: 423-435.
- Cellinia F., Chessonb A., Colquhounc I., Constabled, A. Daviese H.V., Engelf K.H.Gatehouseg A.M.R.,Karenlampih S., Koki E.J., Leguayj J.-J.,. Lehesrantah S, Noteborni H.P.J.M., PedersenkJ., Smithl M.. Unintended effects and their detection in genetically modified crops. *Food and Chemical Toxicology* 42 (2004) 1089–1125.
- Craig, W., Tepfer, M., Degrassi, G. and Ripandelli, D., 2008. An overview of general features of risk assessments of genetically modified crops. *Euphytica*, 164: 853–880.
- Crecchio, C., Stotsky, G.1998. Insecticidal activity and biodegradation of the toxin from *Bacillus thuringiensis* subspecies kustaki bound to humic acids from soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 30, 463-470.
- Chowdhury, E.H., O. Mikami, Y. Nakajima, H. Kuribara, A. Hino, K. Suga, M. Hanazumi, and Y. Yomemochi. 2003. Detection of genetically modified maize DNA fragments in the intestinal contents of pigs fed Starlink™ CBH351. *Vet. Human Toxicol.* 45(2):95-96.
- De Vendômois, J.S., Roullier, F., Cellier, D. and Seralini, G-E. 2009. A comparison of the effects of three GM corn varieties on mammalian health. *Int. J. Biol. Sci.* 5:706-726.
- De Vries, J., Wackernagel, W. (1998) Detection of *npII* (kanamycin resistance) genes in genomes of transgenic plants by marker-rescue transformation. *Mol Gen Genet* 257: 606-613.
- Deaville, E.R. and Maddison, B.C., 2005. Detection of transgenic and endogenous plant DNA fragments, in the blood, tissues, and digesta of broilers. *J. Agric. Food Chem.* 53:10268-10275.
- Duggan, P.S., Chambers, P.A., Heritage, J., Forbes, J.M. 2003 Fate of genetically modified maize DNA in the oral cavity and rumen of sheep. *Br. J. Nutrition*, 89 (2), 159-166.
- Eede, G. Vanden, A. Von Wright, W. Wackernagel, A. Wilcks, H. Aarts, H. Buhk, G. Corthier, H. Flint, W. Hammes, B. Jacobsen, T. Midtvedt, and J. Van der Vossen. 2004. The Relevance of Gene Transfer

to the Safety of Food and Feed Derived from Genetically Modified (GM) Plants. *Food and Chemical Toxicology* Elsevier, (Eds.), Elsevier (Publ.), Amsterdam.

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

http://www.efsa.europa.eu/cs/BlobServer/Scientific_Opinion/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 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.europa.eu/cs/BlobServer/Scientific_Opinion/opinion_gmo-02_final_en1.pdf

EFSA, 2004a. Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the Notification (Reference C/NL/00/10) for the placing on the market of insect-tolerant genetically modified 1507 maize, for import and processing, under Part C of Directive 2001/18/EC from Pioneer Hi-Bred International/Mycogen Seeds. *The EFSA Journal* (2004) 124, 1-18.

http://www.efsa.europa.eu/cs/BlobServer/ScientificOpinion/Final%20opinion%201507%20maize_import.pdf

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

http://www.efsa.europa.eu/cs/BlobServer/Scientific_Opinion/opinion-gmo-05--en1,0.pdf

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/cs/BlobServer/Scientific_Opinion/gmopanelriskassessment1,0.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, 2007a, Guidance Document of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms for the risk assessment of genetically modified plants containing stacked transformation events The EFSA Journal 512, 1-5.

http://www.efsa.europa.eu/cs/BlobServer/Scientific_Document/gmo_guidance_ej512_GM_stacked_events_en.pdf

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. The EFSA Journal 470, 1-25.

http://www.efsa.europa.eu/cs/BlobServer/Scientific_Opinion/gmo_ov_op12_annexa_en,0.pdf

EFSA, 2009. Scientific Opinion of the Panel on Genetically Modified Organisms on an application (Reference EFSA-GMO-UK-2005-21) for the placing on the market of insect-resistant and herbicide-tolerant genetically modified maize 59122 x 1507 x NK603 for food and feed uses, and import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Pioneer Hi-Bred International, Inc.. The EFSA Journal (2009) 1050, 1-32.

Ellis, R.T., Stockhoff, B.A., Stamp, L., Schnepf, H.E., Schwab, G.E., Knuth, M., Russell, J., Cardineau, G.A. and Narva, K.E. 2002. Novel *Bacillus thuringiensis* Binary Insecticidal Crystal Protein Active on Western Corn Rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte. *Applied Environmental Microbiology* 68: 1137-1145. (<http://aem.asm.org/cgi/content/full/68/3/1137>).

FAO/WHO, 2000. Safety aspects of genetically modified foods of plant origin. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Foods Derived from Biotechnology, World Health Organisation (WHO), Geneva, Switzerland, p 35.

Gebhard, F. and Smalla, K. (1999) Monitoring field releases of genetically modified sugar beets for persistence of transgenic plant DNA and horizontal gene transfer. *Fems Microbiology Ecology* 28, 261-272.

Gijs A. Kleter and Ad A.C.M. 2006. Peijnenburg. Prediction of the potential allergenicity of novel proteins. *Frontis Volume 10 Allergy Matters: New Approaches to Allergy Prevention and Management*. Chapter 10, 85-93.

- Hilbeck, Angelika, Moar William J. Puzsai-Carey Marianne, Filippini Agata, Bigler Franz. 1999. Prey-mediated effects of *Cry1Ab* toxin and protoxin and *Cry2A* protoxin on the predator *Chrysoperla carnea* *Entomologia Experimentalis et Applicata* 91: 305–316.
- ILSI, 2006. ILSI Crop Composition Database Web site. Version 3.0
<http://www.cropcomposition.org/>
- Jonas Wayne B, Anderson Rachel L, Crawford Cindy C and Lyons John S. 2001. A systematic review of the quality of homeopathic clinical trials. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 2001, 1:12.
<http://www.biomedcentral.com/1472-6882/1/12>.
- Kleter Gijs A., Kok. Esther J. 2010. Safety assessment of biotechnology used in animal production, including genetically modified (GM) feed and GM animals – a review. *Animal Science Papers and Reports* vol. 28, no. 2, 105-114.
- Koskella, J., Stotsky, G. 1997. Microbial utilization of free and clay-bound insecticidal toxins from *Bacillus thuringiensis* and their retention of insecticidal activity after incubation with microbes. *Applied Environmental Microbiology*, 63, 3561-3568.
- Losey, J.E., Rayor, L.S. and Carter, M.E., 199.) Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature* 399:214.
- Marchetti, E., Accinelli, C., Talame, V. and Epifani, R., 2007. Persistence of Cry toxins and *cry* genes from genetically modified plants in two agricultural soils. *Agronomy for Sustainable Development* 27 (3): 231-236.
- Masson, L., Schwab, G., Mazza, A., Brousseau, R., Potvin, L., Schwartz, JL, 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.
- Meyer, T. 1999. Comparison of Amino Acid Sequence Similarity of Cry1F and PAT Proteins to Known Allergen Proteins. Pioneer Hi-Bred International, Inc. unpublished report. (Not made available or disclosed to unauthorized persons)
- Naranjo, S.E., 2009. Impact of *Bt* crops on non-target invertebrates and insecticide use patterns. *CAB Rev. Perspectives Agric. Vet. Sci. Nutrit. Nat. Resour.*, 4 (11): 23 p.
- Nielsen, A.T., Tolker-Nielsen, T., Barken, K.B., and Molin, S. 2000. Role of commensal relationships on the spatial structure of a surface-attached microbial consortium. *Environ Microbiol* 2: 59–68.

- OECD, 2000. Report of the task force for the safety of novel foods and feeds, May 2000. C(2000)86/ADD1. Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), Paris, 72.
- OECD, 2002. Consensus Document on compositional considerations for new varieties of maize (*Zea mays*): Key food and feed nutrients, anti-nutrients and secondary plant metabolites (ENV/JM/MONO(2002)25), No. 6, 1-42.
- 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.
- OECD, 2007. Consensus document on safety information on transgenic plants expressing *Bacillus thuringiensis* – derived insect control proteins. Series on Harmonisation Regulatory Oversight in Biotechnology, Number 42 Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), Paris, 109 pp.
- Paget, E., Simonet, P. 1997. Development of engineered genomic DNA to monitor the natural transformation of *Pseudomonas stutzeri* in soil-like microcosms. *Can. J. Microbiol.*, 43, 78-84.
- Perreten, V., Schwarz, F., Cresta, L., Boeglin, M., Dasen, G., Teuber, M., 1997a. Antibiotic resistance spread in food. *Nature* 389, 801–802.
- Poletika, N. N. 2003. Non-target invertebrate ecological risk assessment for field corn expressing *cry34Ab1* and *cry35Ab1* Insecticidal Crystal Proteins in Event DAS-59122-7. Dow AgroScience LLC. unpublished report. (Not made available or disclosed to unauthorized persons)
- Prescott V.E., Hogan S.P. 2006. Genetically modified plants and food hypersensitivity diseases: Usage and implications of experimental models for risk assessment. *Pharmacology and Therapeutics*, 111: 374–383.
- Rischer, H. and Oksman-Caldentey, K. 2006. Unintended effects in genetically modified crops: revealed by metabolomics ? *Trends in Biotech.* 24: 102-104.
- Rissler, J. and M. Mellon. 1993. Perils amidst the promise: ecological risks of transgenic crops in a global market. Union of Concerned Scientists. Cambridge, MA.
- Salyers, A., 1997. Horizontal gene transfer between prokaryotes. *Nordic Seminar on Antibiotic Resistance Marker Genes and Transgenic Plants*, p. 8-16. June 12-13, 1997, Oslo, Norway. The Norwegian Biotechnology Advisory Board.

- Sanvido, O., Romeis, J and, Bigler, F. ,2007. Ecological impacts of genetically modified crops: ten years of field research and commercialcultivation. *Adv Biochem Eng Biotechnol* 107:235–278.
- Séralini et al., 2007. New analysis of a rat feeding study with a genetically modified maize reveals signs of hepatorenal toxicity. *FSANZ Review* 1-9.
- Schluter, K., Futterer, J. and Potrykus, I., 1995. Horizontal gene-transfer from a transgenic potato line to a bacterial pathogen (*Erwinia-chrysanthem*) occurs, if at all, at an extremely low-frequency. *Bio/Technology*, 13: 1094–1098.
- Schnepf, H.E., Lee, S., Dojillo, J., Burmeister, P., Fencil, K., Morera, L., Narva, K.E. ve Wolt, J.D., 2005. Characterisation of *cry34/cry35* binary insecticidal proteins from diverse *Bacillus thuringiensis* strain collections. *Appl. Environ. Microbial.*, 71 (4) : 1765-74.
- Shiva, V. 1993. *Monoculture of the Mind*, Penang. Third World Network.
- Smalla, K., Wellington, E. and van Elsas, J.D., 1997. Natural background of bacterial antibiotic resistance genes in the environment. *Nordic Seminar on Antibiotic Resistance Marker Genes and Transgenic Plants*, p. 8-16. June 12-13, 1997, Oslo, Norway. The Norwegian Biotechnology Advisory Board.
- Stewart, K.K., *Food Composition and Analysis in the Assessment of the Safety of Food Produced by Biotechnology*, Food Technology, March 1992, pp. 103-107.
- Song, P. 2003. Comparison of the Amino Acid Sequences of *Bacillus thuringiensis* Strain PS149B1 *cry34Ab1* and *cry35Ab1* Insecticidal Crystal Proteins as Expressed in Maize to Known Proteins. Dow AgroScience LLC. unpublished report. (Not made available or disclosed to unauthorized persons)
- Taylor, M., Lucas, D., Nemeth, M., Davis, S., and Hartnell, G., 2007. Comparison of Broiler Performance and Carcass Parameters When Fed Diets Containing Combined Trait Insect-Protected and Glyphosate-Tolerant Corn (MON 89034 × NK603), Control, or Conventional Reference Corn. *Poultry Sci.* 86 : 1988–1994.
- Wahl, G.M., de Saint Vincent, B.R. ve De Rose, M.L., 1984. Effect of chromosomal position on amplification of ransfected genes in animal cells, *Nature* 307 : 516-520.
- Zhang, X., Candas, M., Griko, N.B., Taussig, R. and Bulla, L.A., 2006. A mechanism of cell death involving an adenylyl cyclase/PKA signaling pathway is induced by the Cry1Ab toxin of *Bacillus thuringiensis*. *Proceedings of the National Academies of Science (U.S.A.)* 103 (26): 9897-9902.