

YEM AMAÇLI KULLANILMAK İSTENEN GENETİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ GA21 MISIR ÇEŞİDİ VE ÜRÜNLERİ İÇİN BİLİMSEL RİSK DEĞERLENDİRME RAPORU

RAPORUN HAZIRLANIŞ GEREKÇESİ VE DAYANAKLARI:

Bu rapor, genetik olarak değiştirilmiş GA21 kodlu mısır çeşidi ve ürünlerinin (**GA21 den oluşan, içeren veya üretilen ürünler**) yem amaçlı kullanımı için, 5977 sayılı Biyogüvenlik Kanunu ve ilgili yönetmelik uyarınca Biyogüvenlik Kurulu'nun 03.03.2011 tarih ve 6 nolu toplantı kararı ile oluşturulan ve bu doğrultuda görevlendirilen Bilimsel Risk Değerlendirme Komitesi tarafından hazırlanmıştır. Raporun hazırlanmasında, Biyogüvenlik Kanunu ve kanunun uygulanması ile ilgili yönetmelikler, Rio bildirgesi, Cartagena Biyogüvenlik Protokolü ve ilgili AB direktifleri gibi ulusal ve uluslararası düzenlemeler dikkate alınmıştır.

Rapor hazırlanırken GA21 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 ülkelerdeki üretim ve tüketim durumları göz önünde bulundurulmuştur.

İTHALATÇI KURULUŞLAR:

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

ÇEŞİDİ ÜRETEK KURULUŞ:

Syngenta Crop Protection AG, Basel Switzerland
Schwarzwaldallee215
CH 4058 Basel
Switzerland

ÇEŞİDİN GELİŞTİRİLME AMACI VE ÜRETİMİ:

Yabancı otlar, kültür bitkilerinde önemli verim ve kalite kayıplarına neden olan, tarımsal üretimde mücadele edilmesi gereken arzu edilmeyen bitkilerdir. Yabancı otlarla kültürel önlemler (çapalama, elle yolma vb.) ve çoğunlukla da herbisit kullanılarak mücadele edilmektedir. Bu amaçla rekombinant DNA teknolojisinde gelişmelere paralel olarak total herbisit olarak bilinen glyphosate ve glyphosinate gibi herbisitlere karşı dayanıklılık genleri kültür bitkilerine aktararak herbisitlere tolerant ticari çeşitler geliştirilmiştir. Bu herbisitlerden glyphosate, sadece bitki ve mikroorganizmalarda bulunan ve aromatik amino asit (tirozin, fenilalanin, triptofan) sentezinde gerekli EPSPS (5-enol pyruvylshikimate-3-phosphate synthase) enziminin aktivitesini engelleyerek herbisit etkisi göstermektedir. Bu amaçla bitki veya mikroorganizmalardan elde edilen *epsps* genlerinin yapısı değiştirilerek ticari çeşitlere aktarılmış ve adı geçen herbisite tolerant çeşitler geliştirilmiştir. Herbisite tolerant özellikteki bu çeşitlerin yetiştirildiği alanlarda herhangi bir gelişme döneminde söz konusu herbisit kullanılarak tüm yabancı otlara karşı etkin bir mücadele yapılabilmektedir.

Rapora konu olan GA21, genomunda mEPSPS enziminden sorumlu genleri içerecek şekilde, transformasyonla elde edilmiş ve glyphosate herbisitine tolerant ticari bir mısır çeşididir.

RİSK ANALİZİ VE DEĞERLENDİRMESİ:

GA21 transgenik mısır ve ürünlerine ait bilimsel risk analiz ve değerlendirmesi, bu çeşidin geliştirilmesinde kullanılan gen aktarım yöntemi, aktarılan genin moleküler karakterizasyonu ve ürettiği protein, besin değeri, olası alerjik ve toksik etkileri, çevreye gen kaçıışı ile oluşabilecek riskler dikkate alınarak yapılmıştır.

Bu çeşitle ilgili bilimsel risk değerlendirilmesi yapılırken, 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. GA21 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 Karakterizasyon

1.1. Aktarılan genleri taşıyan vektörlerin yapısı ve gen aktarım yöntemi

GA21 mısır çeşidi, bir mısırdan alınarak modifiye edilmiş epsps gen (mepsps) kasetinin mısır (*Zea mays*) embriyo hücrelerine transformasyonu ile elde edilmiştir. Gen aktarımı, partikül bombardımanı yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. *mepsps* gen kaseti, pDPG434 plazmit vektörünün, *NotI* enzimiyle kesimi sonucu 3.49 kb lik doğrusal bir DNA parçası olarak elde edilmektedir.

pDPG434 plazmidi, pUC19 plazmidinden türetilmiş rekombinant bir plazmidir. Aktarımda kullanılan kasetin yapısında; *mepsps* genine ek olarak pirinç-aktin promotörü, intron sekansı ve *mepsps* geninin bağlı olduğu optimize transitpeptid sekansı ve *Agrobacterium tumefaciens*'den elde edilmiş NOS 3' terminasyon sinyali yer alır.

pUC19 yapısında yer alan ColE1 replikasyon orijini, *lac* sekansı ve β -lactam grubu antibiyotiklere dirençlilikten sorumlu β -lactamaz enziminin sentezini kontrol eden *bla* geni pDPG434 plazmidinin de yapısında yer alır. Ancak, *NotI* enzimi kesimi sonrası, *lac* sekansı ve bakterilerde ampisilin direncini kodlayan bakteriyel *bla* geninin transforme edilecek hücrelere aktarılmadığı gözlenmiştir. Sonuçta GA21 mısır çeşidinin gen yapısında antibiyotik dirençlilik geni bulunmamaktadır.

Yapılan moleküler analizler (southern blot ve hibridizasyon çalışmaları), bakteriyel kökenli genlerin, GA21 mısır çeşidinin genom yapısında bulunmadığını göstermiştir.

Transformasyonla GA21 mısır çeşidinin oluşmasında rol oynayan mepsps gen kasetinin yapısında yer alan DNA bölgeleri ve özellikleri aşağıda belirtilmiştir.

1.r-act olarak tanımlanan PROMOTÖR BÖLGE. Bu bölge ilk intron ve promotör kısımdan oluşan çeltik-aktin 1 geninin 5' ucunu kapsayan bölgedir.

2.Optimize edilmiş TRANSİT PEPTİD BÖLGE. Bu bölge ayçiçeği (*Helianthus annuus*) transit peptid ve mısır (*Zea mays*) kökenli ribüloz 1,5 bifosfat karboksilaz oksijenaz (*RuBisCO*) gen bölgelerini içeren DNA bölgesidir. Bu bölgenin işlevi, *mepsps* gen ürününü, aromatik amino asit biyosentezinin yapıldığı yer olan kloroplasta yönlendirmektir.

3.*mepsps* GEN BÖLGESİ. Glyphosate'a tolerans sağlayan mEPSPS proteinin sentezini kodlayan DNA bölgesidir. Mutasyon sonucu oluşturulmuş ve mısırdan elde edilen mEPSPS proteinini kodlayan bu gen bölgesinin baz diziliminde mutasyon sonucu mEPSPS proteininin 102. pozisyondaki (threonin'den izolösin'e) ve 106. pozisyondaki (prolin'den serine) amino asitlerinin değişimi gerçekleşmiştir. Bu mutasyonlar sonucunda mepsps içeren GA21 mısır çeşidi glyphosate herbisidine tolerant (dayanıklılık) özellik kazanmaktadır

4.NOPALİN SENTAZ GEN BÖLGESİ: Bu bölge *Agrobacterium* Ti-plasmid'inden türetilmiş Nopalin sentaz geninin 3' UTR (untranslated region) bölgesini içerir. Bu bölgenin işlevi transkripsiyonu sonlandırmaktır.

1.2. Aktarılan genlerin moleküler yapı, ekspresyonu ve kararlılık analizleri

1.2.1. Aktarılan genlerin moleküler yapıları

Southern analizi, GA21 mısır çeşidine aktarılan DNA parçasının tek bir yerleşim bölgesine girdiğini göstermiştir. Southern blot analizi, mısır genomuna yerleşen yabancı DNA bölgesinin, 3.49 kb'lik *NotI* kesim parçasının 6 adet ardışık bütün veya kesilmiş versiyonlarını (6 farklı parça olarak) içermekte olduğunu göstermiştir. pDPG434 vektörüne uygun problemlerin kullanımı ile GA21 DNA'sında yapılan Southern analizi, GA21 çeşidinde vektör yapısına ait sekansların olmadığını göstermiştir. Dolayısıyla, *bla* geninin de GA21 mısır çeşidine transfer edilmediği belirtilmiştir.

Mısır GA21 çeşidine aktarılan 6 parçalı DNA bölgesinin nükleotid sekansı bütünlüğü açısından incelendiğinde:

- Parça 1; 5' ucundan 696 bp'lik bir bölüm çıkarılmasıyla elde edilen çeltik aktin promotörünü, aktin birinci ekzon ve intronunu, optimize edilmiş transit peptidini, *mepsps* genini ve nos terminatörünü içermektedir.
- Parça 2,3,4; pDPG434 plazmidinin, *NotI* enzimi ile kesilmiş parçasının 3.49 kb'lik tam versiyonudur.
- Parça 5; çeltik aktin promotörünün tamamını, aktin birinci ekzon ve intronunu, optimize edilmiş transit peptidi ve *mepsps* geninin stop kodonu ile biten 288 bp'lik bölgeyi içermektedir.
- Parça 6; çeltik aktin promotörünü ve kesilmiş aktin birinci ekzonunu içermektedir. Buna ek olarak, parça 6'da aktin promotöründe tek nükleotid eksikliği gözlenmiştir.

Parça 1 ve 2'de Nos terminatör bölgesinde bir baz çifti değişimi gözlenmiştir (C yerine G). Nükleotid değişikliğinden kaynaklanan bu mutasyonlar, yeni ifade edilen proteinlerin aminoasit diziliminde herhangi bir değişikliğe neden olmadığı EFSA raporunda belirtilmektedir (EFSA, 2007).

Aktarılan DNA bölgesinin 3' ucuna bitişik olarak 1 kb, 5' ucunda ise 4.2 kb'lik bitki genomu sekansları belirlenmiştir. 3' ucun BLAST analizi, aktarılan bölgenin, fonksiyonel bir mısır geninin içine yerleşmediğini düşündürmüştür. 3' ucun sekansı mısır genomunda kendini tekrarlayan sekanslar ile homoloji göstermiştir. 5' uçtan uzayan sekansın ise kloroplast DNA'sına ait olduğu gösterilmiştir. Organel DNA'sının, nükleer bitki genomuna entegrasyonu (daha önce var olan veya transformasyon sırasında daha sonradan kazanılan) bitki biyolojisinde olağan olarak bilinmektedir. EFSA GMO paneli bunun halihazırdaki güvenlik değerlendirmesini önemli ölçüde etkilemediğini belirtmiştir (EFSA, 2007).

1.2.2. Aktarılan genlerin ekspresyonu

Northern blot analizi, kesilmiş olan parça 5'deki genin ifade edilmediğini göstermiştir. Western blot analizi ise parça 5'in, bir protein üretiminde rol almadığını göstermiştir. Mısırın endojenik EPSPS proteini, GA21 mısırındaki transgenik mEPSPS proteininden çok daha az miktarda sentezlenmektedir. Fonksiyonu bilinmeyen ve varsayım olarak ifade edilebilecek (putative) 6 adet anlamlı protein kodlayan gen bölgesi GA21 de tespit edilmiş olup, bu bölgelerin üretebileceği proteinlerin, toksik proteinler ve/veya alerjenler ile homolojisinin olmadığı gösterilmiştir (EFSA, 2007).

1.2.3. Aktarılan genlerin kararlılık analizleri

mEPSPS protein miktarları, 3 kuşaktan fazla geri melezleme yapılan Genetiği Değiştirilmiş (GD) mısır yapraklarında analiz edilmiş ve önemli ölçüde değişmediği saptanmıştır. Bu durum, mEPSPS proteininin birkaç kuşak boyunca kararlı bir şekilde sentezlendiğini göstermektedir. Southern blot analizi, GA21 mısırdaki bulunan aktarılmış bölgenin kararlı bir şekilde en az 3 geri melezleme boyunca kalıtsal olarak taşındığını göstermiştir. GA21 mısır

aktarılan gen bölgesinin fenotipik ve moleküler kararlılığının olduğu sonucuna varılmıştır (EFSA, 2007).

2. Kimyasal Bileşim ve Tarımsal Özelliklerin Risk Analizi:

2.1. Kimyasal bileşim analizi

ABD' de 6 farklı bölgede iki yıl üst üste yapılan tarla denemeleri sonucunda, GA21 mısır ile genetiği değiştirilmemiş çeşitlerin kimyasal bileşimleri karşılaştırılmıştır. Bu denemeler sonucunda elde edilen ürünün kimyasal bileşimi bakımından (OECD 2002 de önerilen bileşenler) GA21 mısır ile genetiği değiştirilmemiş çeşitlerin arasında bazı farklar saptanmıştır. Ancak bu farklılıkların, ticari olarak kullanılan geleneksel/hibrit mısır çeşitlerindeki limitler dahilinde kaldığı belirlenmiştir (EFSA, 2007).

GA21 mısır ve genetiği değiştirilmemiş mısırlardan elde edilen mısır hasılında (yeşil mısır bitkisi) yağ, protein, toplam karbonhidrat, asit deterjan lifi (ADF), nötral deterjan lifi (NDF), kül, fosfor ve kalsiyum analizleri yapılmıştır. Çalışmalarda yemlerde elde edilen değerler, hem kontrole, hem de ticari mısır çeşitleriyle ilgili raporlardaki (OECD 2002; ILSI 2004) limitlerle karşılaştırılmıştır. Bazı parametreler arasında önemli farklılıklar belirlenmiştir; özellikle NDF oranı azalırken, fosfor oranı artmıştır.

Aynı çalışmalardan elde edilen mısır tanesinde yağ, protein, kül, nem, toplam karbonhidrat, nişasta, yağ asitleri (palmitik, stearik, oleik, linoleik ve linolenik asit) , aminoasitler, mineraller (kalsiyum, bakır, demir, magnezyum, manganez, fosfor, potasyum, sodyum, selenyum, çinko) vitaminler ve provitaminler, anti besinsel faktörler (fitik asit, rafinoz ve tripsin inhibitörü) ve diğer sekonder metabolit (inositol, furfural, p-kumarik asit ve ferulik asit) analizleri yapılmıştır. İncelenen parametreler arasında istatistiki olarak önemli farklılıklar bulunmamıştır.

GA21 mısır tanelerindeki β -karoten düzeyi kontrole oranla önemli düzeyde yüksek bulunmuştur. Bunlara ilaveten, GA21 mısır tanelerinde kriptoksantin ve diğer karotenoitlerin miktarı da daha yüksek olarak belirlenmiştir (EFSA, 2007).

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. Amerika Birleşik Devletleri'nde 2004 - 2005 ve Avrupa'da 2007 yılında yapılan araştırmalara göre herbisite tolerans geni ihtiva eden GA21 mısır çeşidi ile geleneksel hibrit mısır çeşitleri arasında önemli tarımsal ve biyolojik karakterler bakımından istatistiki anlamda bazı farklılıklar tespit edilmiş ise de bu farklılıkların gen transferi yapılmış GA21 mısır çeşidinin karakteristik özelliklerinin ortaya koyduğu bir sonuç olmadığı rapor edilmiştir (EFSA 2007).

3. Çevresel risk değerlendirmesi

3.1. Genetik değişiklikten kaynaklanabilecek yayılma potansiyeli

Mısır, yazlık bir sıcak iklim bitkisi olup Türkiye koşullarında kış sezonunda tarımının yapılma şansı yoktur (Kırtok, 1998; OECD, 2003). Koçan üzerinden dökülen mısır tanelerinin toprağa karışarak kış koşullarını atlatıp, ilkbaharda çimlenip neslini devam ettirme şansı bulunmamaktadır.

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

Mısır bitkisinin anavatanı Amerika kıtası olup, bu kıtanın keşfinden sonra Kuzey Afrika üzerinden Türkiye'ye getirilmiştir. Dolayısıyla Türkiye mısır bitkisinin orijin merkezi değildir ve Türkiye'de endemik bir mısır türü bulunmamaktadır. Bununla birlikte çok uzun yıllardan beri

Türkiye’de yetiştiriliyor olması sebebiyle sayısız lokal populasyon ve ıslah edilen çok sayıda yerli çeşiti de mevcuttur.

Yem amaçlı ithalat talebinde bulunulan GD mısır çeşitleri kültüre alınmasalar da kontrol edilemeyen faktörler sebebiyle yerli çeşitlere ve lokal popülasyonlara polen kaçıışı riski çok az da olsa vardır. Ülkemizde GD bitkilerin yetiştirilmesi kanunen yasak olduğundan çevresel risk değerlendirmeleri; GA21’in kullanımı dikkate alınarak hayvan yemi olarak tüketimi sonrası sindirim sisteminden başlayıp dışkı ve gübre şeklinde çevreye bırakılması şeklinde ve GD ürününün taşınması, işlenmesi ve depolanması esnasında kazayla çevreye yayılma riskleri ile sınırlı tutulmuştur.

3.2. Bitkiden bitkiye gen transfer potansiyeli

Mısır, yabancı döllen (allogame) 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 kaçıışı olasılığını sınırlandıran faktörler:

- GD ürün tarımının kanunlarla yasaklanmış olması,
- Ülkemizin yabancı mısır türlerinin gen merkezi olmaması,
- Mısır tarımının sınırlı alanlarda yapılması,
- Mısır tohumlarının dormansi göstermemesi,
- Uygun koşullar altında çimlenip gelişebilmeleri,
- Tohumların yenmesi ve çürümesidir.

Mısır, ancak uygun koşullarda tarımsal ekosistem içinde canlılığını sürdürebilen bir türdür. GA21 mısır çeşidi yem amaçlı olarak kullanılacak ise de kontrol edilemeyen faktörler ile (kaza, dikkatsizlik, kasıt vb.) çok az da olsa çevreye yayılma olasılığı vardır.

Söz konusu GD mısır kültüre alındığında, glyphosate herbisitine karşı dayanıklılık geni içermesi nedeniyle yabancı otlarla mücadele açısından mısır yetiştiriciliğinde önemli bir avantaj sağlamaktadır. Ancak GD mısır herbisite dayanıklılık geni dışında, hastalıklara dayanıklılık, diğer kültür bitkileri ile rekabet, soğuk koşullarda yaşamını sürdürme, dormansiye sahip olmama gibi özellikler bakımından geleneksel mısır çeşitlerinden farklı değildir. Bu durumda da mısır üretim alanları dışındaki farklı ekolojilerde kendiliğinden yetişerek yaşamını sürdürme şansı bulunmamaktadır. Tarla denemeleri, GA21’in geleneksel mısır çeşidine göre aşırı bir yayılma, farklı bir gelişme ya da doğaya uyum özelliğinin bulunmadığını göstermiştir. Ayrıca mevcut literatür incelendiğinde söz konusu çeşidin doğada kalabilme, kışı geçirebilme gibi farklı bir özellik taşımaya yönelik herhangi bir bulguya da rastlanmamıştır.

3.3. Gen transfer potansiyeli

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

3.4. Mikroorganizmalara gen transferi

EFSA 2004 ve EFSA 2007 de belirtilen mevcut bilimsel veriler dikkate alındığında; ancak mikroorganizmalar arasındaki uyumlu rekombinasyonlar olması durumunda gen transferi gerçekleştiği için, doğal koşullarda GD bitkilerden mikroorganizmalara gen transferi hemen hemen imkansız görünmektedir. GA21 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.

GA21 mısır çeşidindeki değiştirilmiş *mepsps* geni prokaryotik mikroorganizmalarda hiçbir zaman ifade edilmeyen ökaryotik çeltik aktin promotörünü içermektedir. GD bitkilerde ifade edildiği gibi aynı özellikleri taşıyan prokaryotik düzenleyici bölgelerin kontrolü altındaki genler doğal olarak çevredeki mikroorganizmalarda yaygın olarak bulunmaktadır. Ayrıca pDPG434 plazmidinin oluşturulmasında seçici marker olarak kullanılan ampisilin dayanıklılığını kodlayan *bla* geni, GA21 genomu içinde mevcut değildir. Bu nedenle *bla* geninin mikroorganizmalara transfer riski bulunmamaktadır.

mepsps geninin yapısı ve orijini dikkate alındığında, çevre ve sindirim sistemindeki seleksiyon baskısının eksikliği, bu genlerin diğer mikroorganizmalara farklı bir özellik katacak ya da uyumunu arttıracak şekilde horizontal 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 mevcut mikrobiyal flora yeni bir özellik katmayacağı gibi mevcut mikroorganizmalara uyumu da son derece sınırlıdır.

Sonuç olarak GA21 mısır çeşidi, 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 yaratmayabileceği kanısına varılmıştır.

4. Yem Güvenliğinin Değerlendirilmesi

GA21 mısırın, ticari olarak kullanılan geleneksel/hibrit mısır gibi işlenmesi amaçlanmıştır. Mısır birincil olarak hayvan yemi olarak kullanılır. GA21 mısırdan elde edilen yağ ve cips gibi, yağ ve kuru öğütülmüş mısır kısımlarında mEPSPS protein düzeyleri ölçülmüştür. ELISA yöntemi ile yapılan analizlerde mısırın ıslak öğütülmüş kısımlarında; lif, nişasta ve mısır özü küspesinde mEPSPS proteini tespit edilmemiştir (tayin sınırları 0.03 µg/g mEPSPS). Bununla beraber kuru öğütülmüş mısır tanesinin, tüm kısımlarında ölçülebilir nitelikte bulunmuştur (her gram ezilmiş tanede yaklaşık 10 µg, kabukda 8 µg ve unda 5 µg mEPSPS). Özellikle ezilmiş taneden rafine edilen yağlarda ve undan üretilen cipslerde mEPSPS düzeyleri ölçülebilir sınırlarda (tayin sınırları 0.02 µg/g mEPSPS) saptanmamıştır (EFSA, 2007).

Rekombinant *Escherichia coli* suşundan türetilen mEPSPS enziminin 30 dakika içinde, 25, 37, 65 ve 95 ° C sıcaklıklarda inkübasyonundan sonra enzimin spesifik aktivitesini belirlemek amacıyla *in vitro* çalışmalar yapılmıştır. İnkübasyondan sonra 25 ve 37 ° C sıcaklığın hiç ya da hafif bir etkisi olurken, 65 ve 95 ° C'de enzim tamamen inaktive olmuştur (EFSA, 2007).

GA21 mısır ve GD olmayan mısırın kimyasal bileşim analizine ait veriler karşılaştırıldığında, işleme etkilerinin de birbirinden farklı olmayacağına söylenebileceği rapor edilmiştir (EFSA, 2007).

4.1. Toksikolojik değerlendirmeler

4.1.1. Kullanılan proteinin güvenliği ile ilgili değerlendirmeler

mEPSPS proteininin GA21 mısırdaki düşük miktarda sentezlenmesi ve güvenlik testleri için yeterli miktarda izolasyonunun mümkün olmaması nedeniyle rekombinant *Escherichia coli* suşundan elde edilen mEPSPS proteini kullanılmıştır. Bunun için mikrobiyal mEPSPS proteini ile GA21 mısırının yapraklarında bulunan EPSPS proteinlerinin düzeyleri karşılaştırılmıştır. GA21 mısırdaki hem mEPSPS, hem de endojen EPSPS enzimi bulunduğu ve yapılan ELISA testleri sonucunda, GA21 mısırının yapraklarındaki toplam EPSPS proteininin yaklaşık %96'sının mEPSPS den oluştuğu gösterilmiştir.

Mikrobiyal ve bitkisel kökenli mEPSPS proteinleri amino asit dizilişlerinin N ucunda birbirine benzemektedir. SDS PAGE ve Western blot analizleri iki proteinin de 47.4 kDa'luk tahmini moleküler kütlesine karşılık gelen belirgin bir bant oluşturduğunu göstermiştir. Mikrobiyal proteinin tahmini moleküler kütlesi MALDI-TOF kütle spektrofotometresi ile doğrulanmıştır.

SDS PAGE'ten sonra ticari bir glikan belirleme kiti kullanılarak yapılan protein glikolizlenme çalışmasında, her iki kaynaktan gelen mEPSPS proteinlerinin de glikolizlenmediği görülmüştür. EPSPS etkinlik testi kullanıldığında da (fosfoenolpiruvat'tan serbest kalan ortofosfat'ın belirlenmesi) proteinlerin enzimatik aktiviteleri birbirlerine yakın bulunmuştur. Bunun için güvenlik çalışmalarında *E.coli* kökenli mEPSPS proteininin bitkisel kökenli proteinin yerine geçebileceği EFSA tarafından kabul edilmiştir (EFSA, 2007).

4.1.2. GA21 mısırında ifade edilen yeni proteinlerin toksikolojik yönden değerlendirilmesi

mEPSPS proteini, proteinleri oluşturan toplam 445 amino asitin 2 tanesinde doğal (endojen) EPSPS'den farklılık göstermektedir (>%99.3 oranında benzer). EPSPS'nin 102 nolu pozisyonundaki treonin, mEPSPS'de izolösin ile ve 106 pozisyonundaki prolin, serin ile yer değiştirmiş ve bitki glyphosate'a dirençli hale getirilmiştir.

EPSPS enzimleri bitkiler ve mikroorganizmalarda bulunur ve bu nedenle insan ve hayvanlar tarafından normal diyetle tüketilir. Mevcut literatür bilgilerine göre bu proteinlerin tüketilmesi sonucu ortaya çıkabilecek herhangi bir olumsuz etki bildirilmemiştir.

Sekans homolojisi açısından değerlendirildiğinde bugüne kadar yapılan biyoinformatik analizler, mEPSPS protein ile bilinen toksik proteinler arasında ilgili bir homolojiye rastlanmadığını göstermiştir (EFSA, 2007).

4.1.3. *In-vitro* sindirilebilirlik

Rekombinant *E.coli* suşu ile GA21 mısırından izole edilen mEPSPS proteinin dayanıklılığı, memeli yapay mide sıvısında (YMS) *in vitro* olarak test edilmiştir. Örnekler SDS PAGE ve protein boyama kullanılarak analiz edildiklerinde 1 dk YMS'de inkübe edildikten sonra yapısal bozulmaya uğramamış bir protein (yaklaşık 47.4 kDa) belirlenmemiştir. EFSA GDO Komitesi mikrobiyal mEPSPS'nin YMS'de 60 dk kadar inkübasyonundan sonra boyalı bölgelerde dağınık olarak (yaklaşık 4-5 kDa) görüldüğüne dikkat çekmişlerdir. Böyle bölgeler pepsin olmadan inkübe edilen mEPSPS numunelerinin analizinden sonra bulunmamıştır. SDS PAGE'ten sonra Western blot analiz kullanılarak 1 dk YMS'de inkübasyondan sonra sağlam protein belirlenmemiştir. Bir dk inkübe edilen bitkisel kökenli mEPSPS numunesinde, bir immunoreaktif parça (yaklaşık 6 kDa) belirlenmiştir. Bu parça 5 dk veya daha uzun inkübasyondan sonra belirlenmemiştir. EFSA GDO Komitesi bu parçanın potansiyel varlığı ile güvenlik endişesi taşımamıştır. 2002 yılındaki Gıda Bilim Komitesi'nin görüşüne göre YMS'de GA21 mısır kökenli protein karışımının 15 saniye inkübasyonundan sonra parçacık tespit edilmediği Western analiziyle ortaya konulmuştur. Proteinin amino asit bileşenlerine parçalandığı veya sağlam protein parçalarına dönüşüp dönüşmediğiyle ilgili kullanılabilir bir bilgi olmamasına rağmen Gıda Bilim Komitesi bu tip dayanıklı protein parçalarının şekillenebileceğine ilişkin bir bulgu görmemiştir (EFSA, 2007).

4.1.4. Akut oral toksisite

Akut oral tek doz toksisite çalışması, 2000 mg mEPSPS/kg canlı ağırlık dozunda 5 erkek ve 5 dişi albino farede yapılmıştır. Bu çalışmada normal muayenelere ilave olarak (örneğin klinik belirtiler, uygulama boyunca yem tüketimi ve canlı ağırlığın belirlenmesi ile patolojik durum gibi), hematolojik ve kimyasal parametreler analiz edilmiş, seçilen organların ağırlıkları belirlenmiş ve histopatolojik muayeneler 15 günlük gözlem periyodunun sonunda yapılmıştır. Sonuçta olumsuz bir etkiyle karşılaşılmemiştir (EFSA, 2007).

4.1.5. Proteinlerden başka diğer bileşenlerin toksikolojik değerlendirilmesi

GA21 mısır çeşidinde ifade edilen mEPSPS proteinden başka yeni bileşik ve karşılaştırmalı bileşim analizlerinde doğal (endojen) bileşiklerin oranında biyolojik yönden bir değişiklik bulunmadığından (EFSA, 2007) yeni bileşiklerin toksikolojik değerlendirmesine gerek duyulmamıştır.

4.1.6. GA21'nin toksikolojik yönden değerlendirilmesi

GA21 mısır tanelerinin kullanıldığı ve sıçanlarda 90 günlük subkronik denemenin yapıldığı bir çalışmada 12 erkek ve 12 dişi Wistar ırkı sıçan (Alpk:AP₁SD) bulunan gruplara %10 ve %41.5 (ağırlık/ağırlık) oranında glifosat uygulanmış GA21 mısır tanelerinden oluşan bir diyet ve %10 ve %41.5 oranında başka bir herbisit uygulanmış GD olmayan (izogenik) mısır veya herbisit uygulanmamış GA21 mısır taneleri içeren rasyonlarla beslenmişlerdir. Düzenli olarak yapılan gözlemlerde klinik yönden herhangi bir reaksiyon görülmemiştir. Hayvanların ayrıntılı muayeneleri ve vücut fonksiyonlarının kantitatif değerlendirmelerinde (ayakların açılma uzunluğu, anlama gücü ve motor etkinlik ölçümü) gruplar arasında biyolojik yönden bir farklılık tespit edilmemiştir. Oftalmoskopik muayenelerde herhangi bir etki görülmemiştir. Yem tüketimi ve yemden yararlanma oranı yönünden bir farklılık görülmemiştir. %41.5 oranında glifosat uygulanmış GA21 mısır katılan yemle beslenen erkek sıçanlar 6, 10, 12, 13 ve 14. haftalarda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında canlı ağırlıklarında azalma göstermişlerdir. Bu farklılık %41.5 oranında herbisit uygulanmamış GA21 mısır içeren rasyonları tüketen erkek sıçanlarda görülmemiştir. Bununla beraber bütün değerler normal kontrol aralıklarında görülmüştür. Olumsuz etkilerin olmaması nedeniyle canlı ağırlık azalmasının toksikolojik olarak önemsiz olduğu kanısına varılmıştır.

Hematolojik ve klinik kimyasal parametreler yönünden yapılan analizlerde kontrol grubuyla karşılaştırıldığında bazı parametrelerde önemli farklılıklar dikkat çekmiştir. Bunlar:

- Düşük doz grubunun erkeklerinde (herbisit uygulanmış ve uygulanmamış GA21 mısır) ortalama hücre hacminde (MCV) azalma,
- Yüksek doz grubunun erkeklerinde (herbisit uygulanmamış GA21 mısır) monosit sayısında azalma,
- Düşük doz grubunun dişilerinde nötrofil sayısında azalma,
- Plazma gama-glutamil transferaz enziminde azalma (herbisit uygulanmamış GA21 mısır);
- Yüksek doz grubunun erkeklerinde (herbisit uygulanmış GA21 mısır) plazma fosfor düzeylerinde azalma,
- Düşük doz grubunun dişilerinde (herbisit uygulanmış ve uygulanmamış GA21 mısır) plazma kreatinin düzeyinde azalma,
- Yüksek doz grubunun dişilerinde (herbisit uygulanmış GA21 mısır) plazma glikoz düzeyinde azalma,
- Düşük doz grubunun dişilerinde (herbisit uygulanmamış GA21 mısır) plazma klorür seviyesinde azalma .
- Organ ağırlıklarında farklılık elde edilmiştir; erkeklerde beyin, kalp ve böbrek ağırlıkları yüksek doz grubunda (herbisit uygulanmış GA21 mısır) artmıştır. Testis ağırlığı düşük doz grubunda (herbisit uygulanmış GA21 mısır) artış göstermiştir.
- Düşük doz grubu dişilerinde (herbisit uygulanmış GA21 mısır) adrenal bez ağırlıklarında azalma ve beyin ağırlıkları ve karaciğer ağırlıklarında artış gözlenmiştir.

Bu bulgular genel olarak dozla ilgili görülmemiş ve bir cinsiyetle sınırlı ve/veya tutarsız olduğu belirlenmiştir. Bulgulara ayrı ayrı organ ve dokulardaki histopatolojik değişiklikler eşlik etmediğinden bunların toksikolojik olarak önemli olmadığı sonucuna varılmıştır (EFSA, 2007).

4.2. Alerji ile ilgili değerlendirmeler

Yeni ifade edilen proteinlerin allerjenitesi ile ilgili değerlendirmeler;

Değişmemiş EPSPS proteinini kodlayan doğal *epsps* geni genellikle alerjen olarak değerlendirilmeyen mısırdan köken alır.

Biyoinformatik analizler geniş bir veritabanı (birçok alerjen veya olası alerjenin bulunduğu) kullanılarak yürütülmüştür. mEPSPS ile benzerlik taraması yapılmış ve 80 aminoasitlik bir

çerçevede %35'den fazla benzerlik gösteren bilinen bir alerjene rastlanmamıştır. Buna ek olarak, mEPSPS protein dizisi ardışık 8-amino asit kriteri ile taranmış, alerjenite ile ilişkili hiçbir sonuca ulaşılamamıştır. Bu analizler allerjenik olduğu bilinen veya kabul edilen proteinlere mEPSPS proteininin biyolojik yönden türdeş olduğunu göstermemektedir. Böylece alerjenlerle hiçbir benzerlik bulunmamıştır.

Ayrıca bu kapsamda potansiyel alerji oluşturabilecek, teorik ORF'lerden (ilgili proteini kodlayan DNA dizilimi) kodlanacak olası füzyon proteinlerinin de değerlendirilmesi yapılmış ve hiçbir alerjenle benzerlik bulunmamıştır. mEPSPS'nin yapay memeli mide sıvısında parçalanmasına yönelik çalışmalar yukarıda açıklanmıştır. Bu proteinlerin bir çoğunun pepsinle parçalandığı görülmüştür. Bu deneyde belirlenen düşük molekül ağırlıklı kalıntı peptidlerin az miktarının alerjeniteye neden olması olasılığı yoktur. Bu bilgilere göre GA21 mısırındaki mEPSPS'nin alerjen olmadığını sonucuna varılmıştır (EFSA, 2007).

4.2.1. Tüm GD mısırın allerjenitesinin değerlendirilmesi

İnsanlarda mısır tozu veya mısır polen alerjisi olduğu az da olsa bilinmektedir. Mısıra bağlı gıda alerjisi nadir olarak görülmektedir (Moneret-Vautrin ve ark., 1998). Ancak mısır ununda IgE bağlayan proteinlerin olduğu belirtilmiştir (Pastorello ve ark., 2000; Pasini ve ark., 2002). Mısır alerjisi atopik hastaların çok az bir kısmında belirlenmiştir. Ayrıca pozitif deri ağrı testi veya mısıra karşı IgE antikorlarına sahip bir çok birey solunum alerjisine maruz kalmış ve yalnızca birkaç tanesi mısır ürünleriyle oral olarak maruz kalması üzerine gerçek gıda alerjisi göstermişlerdir (Pasini ve ark., 2002; Jones ve ark., 1995). Bu nedenle mısır proteinlerine oral duyarlılık çok nadirdir.

Gıda allerjenitesi, bitki genomuna transgenin rastgele aktarılmasıyla istenmeyen bir şekilde artabilir. Ancak, teorik olarak herhangi bir endojen proteininin, GA21 mısırdaki aşırı olarak ifade edilse bile alerjeniteye neden olma olasılığı bulunmamaktadır (EFSA, 2007).

4.2.2. GA21'nin beslenme ile ilgili değerlendirilmesi

Etlik piliçlerde 49 günlük besleme yapılan bir çalışmada yapılmıştır. Deneme gruplarında (150 şer erkek ve dişi içeren) kullanılan rasyonlar, glyphosate uygulanmış GA21 mısır, geleneksel herbisit uygulanmış GA21, geleneksel herbisit uygulanmış GD olmayan mısır ve GD olmayan diğer ticari mısır tanelerini içermiştir. Deneme grupları, hayvanların büyüme durumuna göre yaklaşık %51-64 oranında mısır tanesi içeren rasyonla beslenmiştir. Bu çalışmada olumsuz bir etki görülmemiştir. Rasyonlar, besin madde bileşimi yönünden aynı olmamasına rağmen, gruplar karşılaştırıldığında; mortalite, canlı ağırlık, yemden yararlanma oranı ve karkas özelliklerinde farklılık görülmemiştir. Etlik piliç çalışması, GA21 mısırının GD olmayan mısır ve diğer ticari mısır içeren rasyonla besinsel olarak eşdeğer olduğunu göstermiştir (EFSA, 2007).

Donkin ve ark. (2003) tarafından, glyphosate'a toleran mısırın (RR-GA21) laktasyondaki ineklerin yem tüketimi, süt verimi, süt kompozisyonu ve rumendeki sindirilebilirliği üzerine yapılan bir çalışmada kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında adı geçen parametrelerde önemli bir değişikliğe neden olmadığı ve genetiği değiştirilmemiş mısırla beslenme yönünden eşdeğer olduğu sonucuna varılmıştır.

Sidhu ve ark. (2000) tarafından yapılan bir çalışmada GA21 mısırla geleneksel olarak yetiştirilmiş mısırın kimyasal bileşimi ve beslenme güvenliği değerlendirilmiştir. Kimyasal bileşim analizlerinde mısır tanelerinin lif, amino asit, yağ asiti ve mineral içerikleri ve 2 yetiştirme sezonunda 16 farklı tarladan toplanan mısırın lif ve mineral içerikleri belirlenmiştir. GA21 mısırın beslenme güvenliği 2 günlük etlik piliçlerde rasyona %50-60 oranında katılarak değerlendirilmiştir. Kimyasal bileşim sonuçları biyolojik olarak önemli olmayan bazı değişiklikler haricinde benzerlik göstermiştir. Besleme çalışmasının sonuçları büyüme, yemden yararlanma oranı ve yağlanma yönünden farklılık göstermemiştir. Bu veriler GA21 mısırının yem ve gıda olarak kullanıldığında genetiği değiştirilmemiş mısır kadar güvenli ve besleyici olduğunu göstermiştir.

Erickson ve ark. (2003), tarafından Illinois Üniversite'sinde ortalama 427 kg canlı ağırlığında 175 besi sığırı üzerinde yapılan bir çalışmada GA21 ve NK603 mısır ile transgenik olmayan hibrid mısır rasyonlara ilave edilmiştir. Denemelerin sonunda performans (kuru madde tüketimi, günlük canlı ağırlık artışı, yemden yararlanma oranı) ve karkas karakteristikleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık gözlenmemiştir.

GENEL SONUÇ ve ÖNERİLER

Genetiği değiştirilmiş bir bitkinin yem güvenliği açısından bilimsel risk analiz ve değerlendirmesinde, 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. Bu konuda yapılan çalışmada, genetiği değiştirilmiş Arabidopsis bitkilerinde 102 adet yeni protein belirlenmiştir. Beklenmeyen etkiler olarak tanımlanan bu değişimler, yeni metabolitlerin oluşmasına veya mevcut metabolitlerin değişmesine neden olabilmektedir (Ren ve ark., 2009).

GA21 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 GA21 mısırdaki üretilen proteinin, yapılan biyoinformatik analizler sonucunda bilinen bir alerjen veya toksik proteinle homolojisine rastlanılmamıştır. GA21 mısırın yem olarak kullanıldığı sınırlı sayıdaki araştırma sonuçlarında kontrolle (genetiği değiştirilmemiş mısır) karşılaştırıldığında bu ürünü içeren yemlerle beslenen hayvanlarda doğal varyasyon dışında ve tutarlı olabilecek toksik veya allerjenik farklılıklar ortaya çıkmadığı görülmüştür.

GA21 mısır çeşidi tarımsal özellikler ve çevresel risk açısından değerlendirilmiş ve çeşidin geleneksel mısır çeşitleriyle farklı olmadığı sonucuna varılmıştır. Ülkemizde 5977 sayılı kanun kapsamında Genetiği değiştirilmiş çeşitlerin yetiştirilmesi yasak olmakla birlikte, ithal edilmesi düşünülen GA21 mısır çeşidi tanelerinin amaç dışı çevreye dağılması veya olası kaçak ekimler nedeniyle gen kaçıışı riski vardır. Bu nedenle söz konusu çeşidin ithaline izin verilmesi durumunda 5977 sayılı Biyogüvenlik Kanunu ve ilgili yönetmeliklere gere yetkili kuruluşlar tarafından izlenmesi gereklidir.

Sonuç olarak, var olan bilgiler ışığında GA21 mısır çeşidinin yem olarak kullanılması halinde insan, hayvan ve çevre sağlığı açısından kayda değer bir risk taşımayabileceği kanaatine varılmıştır.

KAYNAKLAR

Donkin, S.S., Velez, J.C., Totten, A.K., Stanisiewski, E.P., Hartnell, G.F. (2003). Effects of feeding silage and grain from glyphosate-tolerant or insect-protected corn hybrids on feed intake, ruminal digestion, and milk production in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 86:1780–1788.

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. *The EFSA Journal* (2004) 48, 1-18 http://www.efsa.europa.eu/EFSA/Scientific_Opinion/opinion_gmo_05_en1,0.pdf

EFSA (2007). 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 on 22-23 March 2007. http://www.efsa.europa.eu/etc/medialib/efsa/science/gmo/statements/npt2.Par.0001.File.dat/gmo_statement_%20nptII.pdf

Erickson, G. E. Robbins, N. D. Simon, J. J. Berger L. L. Klopfenstein, T. J. Stanisiewski E. P., Hartnell G. F. (2003). Effect of feeding glyphosate-tolerant (Roundup-Ready events GA21 or nk603) corn compared with reference hybrids on feedlot steer performance and carcass characteristics. *J. Anim. Sci.* 81:2600–2608.

FAO, (2009). [http:// faostat.fao.org/site/567](http://faostat.fao.org/site/567)

ILSI (2004). International Life Sciences Institute Crop Composition Database Version 2.0.

<http://www.cropcomposition.org>.

Jones, S.M., Magnolfi ,C.F., Cooke, S.K., Sampson, H.A. (1995). Immunologic cross-reactivity among cereal grains and grasses in children with food hypersensitivity. J. Allergy Clin. Immunol., 96: (3), 341-351.

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

Kurt, O.(2010). Bitki Islahı.Ondokuzmayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi. Yayın No : 43

Moneret-Vautrin, D.A., Kanny, G., Beaudouin, E. (1998). L'allergie alimentaire au maïs existe-t-elle? Allerg. Immunol., 30: (7), 230.

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. Publication No. 6, 2002. ENV/JM/MONO (2002) 25.

OECD (2003). Consensus document on the biology of *Zea mays subsp. mays* (Maize). Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology.

OECD (2007). Consensus document on safety information on transgenic plants expressing *Bacillus thuringiensis* - derived insect control proteins. Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology.

Pasini, G., Limonato, B., Curioni, A., Vincenti, S., Cristaudo, A., Cantucci, B., Dal BelinPeruffo, A., Giannattasio, M. (2002). IgE-mediated allergy to corn: a 50 kDa protein, belonging to the Reduced Soluble Proteins, is a major allergen. Allergy 57: (2), 98–106.

Pastorello, E., Farioli, F., Pravettoni, V., Ispano, M., Scibola, E., Trambaioli, C., Giuffrida, M., Ansaloni, R., Godovac-Zimmermann, J., Conti, A. (2000). The maize major allergen, which is responsible for foodinduced allergic reactions, is a lipid transfer protein. J Allergy Clin. Immunol., 106: (4), 744-751.

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

Sidhu, R.S., Hammond, B.G., Fuchs, R.L., Mutz, J.N., Holden, L.R., George, B. and Olson, T. (2000). Glyphosate-tolerant corn: the composition and feeding value of grain from glyphosate tolerant corn is equivalent to that of conventional corn (*Zea mays* L.). J. Agric. Food Chem. 48: 2305-2312.