

# YEM AMAÇLI KULLANILMAK İSTENEN GENETİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ MON89034 MISIR ÇEŞİDİ VE ÜRÜNLERİ İÇİN BİLİMSEL RİSK DEĞERLENDİRME RAPORU

## RAPORUN HAZIRLANIŞ GEREKÇESİ VE DAYANAKLARI

Bu rapor, genetik olarak değiştirilmiş **MON89034** kodlu mısır çeşidi ve ürünlerinin (**MON89034 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 Protokolu ve ilgili AB direktifleri gibi ulusal ve uluslararası düzenlemeler dikkate alınmıştır.

Rapor hazırlanırken **MON89034** mısır çeşidi ile ilgili ithalatçı firma tarafından dosyada sunulan belgeler, risk değerlendirmesi yapan muhtelif kuruluşların (EFSA, WHO, FAO, FDA, OECD) görüşleri ve bilimsel araştırmaların sonuçları ile farklı ülkelerde üretim ve tüketim durumları göz önünde bulundurulmuştur.

## İTHALATÇI KURULUŞLAR:

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

## ÇEŞİDİ ÜRETEK KURULUŞ:

Monsanto Company

800 N. Lindbergh Boulevard, St.Louis,

Missouri 63167 USA

## ÇEŞİDİN GELİŞTİRİLME AMACI VE ÜRETİMİ:

*Bacillus thuringiensis* bakterisi gram pozitif, endospor oluşturan toprak orijinli bir bakteridir. 1901 yılında ilk kez ölü ipek böceği larvalarından izole edilen bu bakteri, 1911 de Almanya Thuringen'de un değirmeninde ölü un güvesi (*Ephestia kuehniella*) larvalarından izole edilerek tanımlanmıştır (Berliner, 1911). Bu bakterinin oluşturduğu endosporlar ve bakteri hücreleri içindeki kristal protein (cry) böcek tarafından sindirim yoluyla alındığında böcek orta barsak epitel hücrelerinde porlar oluşturarak böceğin su kaybından ölümüne neden olmaktadır. Dünyada pek çok *B. thuringiensis* bakterisi izole edilmiş ve kristal toksin proteinler belirlenerek 3 önemli böcek takımına (Lepidoptera, Coleoptera ve Diptera) karşı etkili izolatlara seçilerek biyolojik mücadele amacıyla ticari preparatlar geliştirilmiştir (Krieg, 1986; Weiser, 1986). Bu preparatlar Dünya'da ve ülkemizde önemli tarım ve orman zararlılarına, sineklere karşı (halk sağlığında) yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu amaçla rekombinant DNA teknolojisindeki gelişmelere paralel olarak *B. thuringiensis* türlerinde böceklere toksik etkiye sahip cry proteinlerini kodlayan genler doğrudan veya baz dizileri değiştirilerek kültür bitkilerine aktarılmıştır ( Barton ve ark., 1987; Fischhoff ve ark., 1987; Vaeck ve ark., 1987). Bu şekilde geliştirilen çeşitlerin tarımı yapıldığında, taşıdığı gene bağlı olarak Coleoptera veya Lepidoptera takımında bulunan zararlılara karşı pestisit kullanılmaksızın yetiştirilmekte ve genetiği değiştirilmemiş klasik çeşitlere karşı önemli bir avantaj sağlanmaktadır.

Rapora konu olan MON89034 mısır çeşidi, mısırdaki zararlı lepidoptera türlerine (*Ostrinia nubilalis*, *Spodoptera ssp*, *Agrotis ipsilon*) karşı öldürücü etkiye sahip *Bacillus thuringiensis*

subsp. *kurstaki* bakterisinin Cry1A.105 and Cry2Ab2 proteinlerinin ekspresyonunu sağlayan genleri içermektedir.

## RİSK ANALİZİ VE DEĞERLENDİRMESİ:

**MON89034** transgenik mısır ve ürünlerine ait bilimsel risk analiz ve değerlendirilmesi, bu çeşidin geliştirilmesinde kullanılan gen aktarım yöntemi, aktarılan genin moleküler karakterizasyonu ve ürettiği protein, besin değeri, olası alerjik, toksik ve çevreye gen kaçıışı ile oluşabilecek riskler dikkate alınarak yapılmıştır.

Bu çeşitle ilgili bilimsel risk değerlendirilmesi yapılırken, çeşitle ilgili ithalatçı firma/firmalar tarafından başvuru dosyalarında sunulan belgeler, risk değerlendirilmesi yapan kuruluşların (EFSA, WHO, FAO, FDA) raporları ve bilimsel araştırmaların sonuçları (alerjik ve toksik etki analizleri, genetik modifikasyonun stabilitesi, morfolojik ve agronomik özellikler, hedef dışı organizmalara etkisi vb.) ile farklı ülkelerde üretim ve tüketim durumları göz önünde bulundurulmuştur. MON89034 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

MON89034 mısır çeşidi, Monsanto firması tarafından geliştirilen, mısırdaki zararlı olan lepidopterlere karşı dirençli bir üründür. MON89034 mısır çeşidinde, *Bacillus thuringiensis*' den aktarılan genler (Tablo 1), Cry1A.105 ve Cry2Ab2 proteinlerini üretir. *cry1A.105* geni, *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* ve *aizawai* suşlarından alınan üç farklı cry proteininin işlevsel bölgelerini içeren, 133 kDa'luk kimerik yapıda bir protein ürünüdür. *cry2Ab2* geni ise *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki*'den alınmıştır ve 61 kDa'luk bir protein üretmektedir. *Bacillus thuringiensis*'e ait Cry1A proteini modifiye edilerek Cry1A.105 proteini elde edilmiştir. Cry1A.105 modifiye proteini, Cry1Ab proteini ile %90, Cry1Ac proteini ile %93.6, Cry1F proteini ile %76.7 oranında amino asit benzerliği göstermektedir.

Aşağıda MON89034 mısır çeşidinin oluşturulmasında kullanılan yabancı moleküler yapılar ile ilgili detaylı bilgi bulunmaktadır.

Tablo 1. Genetik Elemanlar

Gen	Gen kaynağı	Promotör ve diğer elemanlar	Terminatör	Kopya sayısı
<i>cry1A.105</i>	kimeric cry1 delta-endotoksin ( <i>Bacillus thuringiensis</i> )	CaMV 35S Pirinç aktin gen intronunun anlatım yapmayan 5' bölgesi	Mısıra ait ısı şoku proteininin anlatım yapmayan 3' bölgesi	1
<i>cry2Ab2</i>	<i>cry2Ab</i> delta-endotoksin ( <i>Bacillus thuringiensis</i> )	FMV-35S – promotörü ( Figwort Mosaic Virusu) Mısır sıcaklık şoku protein geni intronu <i>Hsp70</i>	<i>A. tumefaciens</i> nopalin sentaz ( <i>nos</i> ) 3'- anlatım yapmayan bölgesi	1

MON89034 mısır çeşidi, 2T-DNA içeren PV-ZMIR245 binari vektörünün *Agrobacterium ABI* suşu aracılığı ile olgunlaşmamış mısır embriyosuna aktarımı ile oluşturulmuştur. T-DNA I olarak adlandırılan birinci T-DNA (Tablo 2), *cry1A.105* ve *cry2Ab2* anlatım kasetlerini içermektedir. T-DNA II olarak adlandırılan ikinci T-DNA ise *nptII* anlatım kasetini içermektedir. İki farklı T-DNA ile gen aktarımı yapılması, bu T-DNA'ların genetik yerleşim sonrası klasik ıslah ile farklı genetik açılımlarının sağlanması ve *nptII* markör geni taşımayan bitkilerin seçilmesi için uygulanmıştır. Transformasyon sonrasında iki T-DNA bölgesinin de bitki genomuna aktarımı sağlanmıştır

*cry1A.105* gen kaseti, promotör ve CaMV 35S RNA'sı için 9bç lik lider dizi içerir. *cry2Ab2* gen kaseti ise Figwort mozaik virüsünün 35S promotörünü (P-FMV), mısır ısı şoku protein genini (*I-Hsp70*), mısır "ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase" küçük altbirimini (TS-SSU-CTP),

Bt'den alınan düzenlenmiş Cry2Ab2 proteinini kodlayan bölgeyi (CS-cry2Ab2) ve *Agrobacterium tumefaciens* nopalin sentaz genini içerir (T-nos).

## 1.2. Aktarılan genlerin moleküler yapı, ekspresyonu ve kararlılık analizleri

MON89034 mısır çeşidi, markörden arındırılmış bir çeşittir. Bu çeşidin moleküler tanımlanması Southern blot analizi ile yapılmıştır. Aktarılan yabancı DNA, mısır genomunda tek bir lokusta bulunmaktadır, *cry1A.105* ve *cry2Ab2* anlatım kasetlerinin (Tablo 1) birer işlevsel kopyasını içermektedir. MON89034 mısır çeşidinde, *cry1A.105* geninin anlatımını düzenleyen e35S promotörü düzenlenmiştir ve PV-ZMIR245'de bulunan sağ sınır bölgesi, sol sınır bölgesi ile yer değiştirmiştir. MON89034 mısır çeşidinde, plazmid DNA'sı veya *npII* dizisinin varlığı bulunmamıştır. Bunun yanısıra, PCR ve DNA dizileme çalışmaları ile aktarılan yabancı DNA dizisinin ve ilgili elemanların dizileri ve varlıkları doğrulanmıştır.

MON89034 mısır çeşidine aktarılan DNA'nın bütünlüğü, Southern blot parmakizi çalışması ile gösterilmiş ve yedi nesil boyunca kontrol edilmiştir. Detaylı olarak yapılan moleküler analizlerde *cry1A.105* ve *cry2Ab2* genlerine tek kopya olarak rastlanmış ve sonraki nesillere de aktarıldıkları gözlenmiştir. MON89034 mısır çeşidinde antibiyotik direnç geni bulunmamaktadır.

Ayrıca, MON89034 mısır çeşidinin birçok neslinde yapılan analizlerde PV-ZMIR245 plazmidine ait dizilere rastlanmamıştır. Gen kararlılığı ile ilgili yapılan çalışmalarda MON89034 mısır çeşidinde bulunan lepidoptere karşı direnç gösterme özelliğine ait gende Mendel'in açılım prensipleri gözlenmiştir.

MON89034 mısır çeşidi dokularında bulunan Cry1A.105 ve Cry2Ab2 proteinlerinin anlatım seviyeleri Amerika Birleşik Devletleri'nde birçok mısır üretim alanında izlenmiş ve ilgili proteinlerin yaprak, kök, dane, saman ve polende ifade edildiği gösterilmiştir. 2005 yılında beş farklı alanda yapılan ekim çalışmalarında, gelişim sürecinde hasat edilen bitkilerde Cry1A.105 ve Cry2Ab2 protein miktarlarının yaprak, kök, tane ve tüm bitkide farklı miktarlarda bulunduğu belirlenmiştir. Ayrıca, genel olarak ilgili protein miktarlarının gelişim sürecinden sonra azaldığıda gözlenmiştir.

MON89034 mısır çeşidinde bulunan ve bitki genomuna aktarılan 77 bç'lik parçanın çoğaltımı ([http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/summaries/MON89034\\_validated\\_Method.pdf](http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/summaries/MON89034_validated_Method.pdf)), bir çift primer ve hedef bölgeye özel floresan (FAM) işaretli prob kullanılarak gerçekleştirilmektedir.

Tablo 2. MON89034 mısır çeşidinin oluşturulmasında kullanılan T-DNA l'de bulunan yabancı moleküler yapılar ile ilgili bilgi bulunmaktadır.

Dizi	Boyut (Kb)	Kaynak	İşlev
B-sağ sınır	0.36	<i>A. tumefaciens</i>	Sınır
P-e35S	0.62	Karnıbahar mozaik virüsü	Promotör
L-Cab	0.06	Buğday	Lider
I-Ract1	0.48	Çeltik	İntron
CS-cry1A.105	3.53	<i>B. thuringiensis</i>	Kodlayıcı dizi
<i>T-Hsp17</i>	0.21	Buğday	Intron
CS-cry2Ab2	1.91	<i>B. thuringiensis</i>	Kodlayıcı dizi
T-nos	0.25	<i>A. tumefaciens</i>	Transkript sonlandırıcı dizi
B-sol sınır	0.44	<i>A. tumefaciens</i>	Sınır

## 2. Kimyasal Bileşim ve Tarımsal Özelliklerin Risk Analizi

### 2.1. Kimyasal bileşim analizi

Saha denemeleri sonrasında kimyasal bileşim analizlerinin belirlenmesinde, MON89034 mısır ve transgenik olmayan mısır melezi (LH198 x LH172) ile karşılaştırılmıştır. Karşılaştırmada ek olarak, üç ticari mısır melezi her deneme alanında denemeye alınmıştır. Her bir deneme alanında üç tekrar bloğu oluşturulmuştur. Saha denemeleri ABD'de 2004 yılında, Arjantin 'de 2004-2005 sezonunda gerçekleştirilmiştir. Her sezon/yıl 5 farklı coğrafi bölgenin farklı tarımsal koşullarında yapılmıştır. Her deneme alanında toplanan mısır hasılı ve mısır tanesinde ayrı ayrı kompozisyon analizleri yapılmıştır.

Mısır hasılında yapılan kimyasal analiz ile ham besin madde miktarları (protein, yağ, kül ve nem) ile, asit deterjan lif (ADF), nötral deterjan lif (NDF), mineraller (kalsiyum ve fosfor) hesaplama ile karbonhidratlar tespit edilmiştir. Mısır tanelerinde ham besin madde analizleri, ADF, NDF, TDF (toplam diyet lifi), amino asitler, yağ asitleri, vitaminler (B1, B2, B6, E, niasin ve folik asit), mineraller (kalsiyum, bakır, demir, magnezyum, manganez, fosfor, potasyum, sodyum, çinko), anti-besinsel faktörlerden fitik asit ve rafinoz ve ikincil metabolitleri furfural, ferulik asit ve p-kumarik asit analizleri yapılmıştır. Ayrıca karbonhidratlar hesaplama ile tespit edilmiştir. Mısır hasılında toplam 9 bileşen, tahıl tanesi olarak 68 bileşen analiz edilmiştir. E vitamini ve rafinoz bileşenleri sadece 2005 yılında tarla denemelerinde elde edilen materyallerde analiz edilmiştir. Her bir bileşen için elde edilen analiz değeri MON89034 mısır ve aynı deneme alanlarından ve tüm merkezlerden toplanan kontrol olarak üretilen geleneksel mısırlar arasında istatistiksel analizler yapılmıştır. Görülen farklılıklar kabul edilebilir sınırlar içinde bulunduğu rapor edilmiştir (EFSA, 2008; Drury ve ark., 2008).

### 2.2. Tarımsal Özelliklerin Analizi

Genetiği değiştirilmiş (GD) ve genetiği değiştirilmemiş mısır çeşitleri arasındaki farkları, tüm özellikler bakımından ortaya koyabilmek için son yıllarda çok sayıda araştırma yapılmıştır. GD mısır çeşitleri biyoteknolojik yöntemlerle elde edildiği için, bu yeni çeşitlerde sadece amaca, yani hastalığa/ böceklerle/ yabancı otlara dayanıklılık bakımından değişiklik meydana gelmektedir. Nitekim 2004 ve 2005 yılında ABD'de yapılan araştırmalara göre önemli tarımsal özellikler (tohum ve çiçek morfolojisi, bitki boyu, vejetasyon süresi vb.) bakımından lepidoptera takımında yer alan zararlı böceklerle dayanıklılık geni ihtiva eden MON89034 mısır çeşidi ile geleneksel hibrit mısır çeşitleri arasında bilinen tarımsal ve biyolojik karakterler ile yabancı ot rekabeti bakımından farklılığın olduğuna dair kesin bir bulgu rapor edilmemiştir (EFSA 2008). Ek olarak MON89034 mısır çeşidinin, işlenmesi, besinlerde ve beslenmede yer alması, depolanması, paketlenmesi, kullanılabilirliği bakımından geleneksel mısır çeşitlerinden farklı olmadığı rapor edilmiştir (Regulation EC No1829/2003)

## 3. Çevresel Risk Değerlendirmesi

Ülkemizde GD bitkilerin yetiştirilmesi kanunen yasak olduğundan çevresel risk değerlendirmeleri; MON89034 mısır çeşidinin kullanımı dikkate alınarak hayvan yemi şeklinde tüketimi sonrası sindirim sisteminden başlayıp dışkı ve gübre şeklinde indirekt şekilde maruz kalma, GD ürününü taşıma, depolama ve işleme esnasında kazayla çevreye yayılma riskleri ile sınırlı tutulmuştur.

MON89034 mısır çeşidi mısırdaki zararlı lepidoptera türlerine (*Ostrinia nubilalis*, *Spodoptera ssp*, *Agrotis ipsilon*) karşı öldürücü etkiye sahip *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* ve *aizawai* suşlarının Cry1A.105 and Cry2Ab2 proteinlerini kodlayan genlerini içermektedir.

### 3.1. Genetik değişiklikten kaynaklanabilecek yayılma potansiyeli

Doğada bulunan bitkiler arasında en yüksek enerji stoğuna sahip olan mısır bitkisi Dünya'da 159 milyon hektar alanda ekilmekte ve yaklaşık 817 milyon ton tane üretimi yapılmaktadır. Ülkemizde 2009 yılı verilerine göre 592 bin hektar ekim alanında yaklaşık 4.2 milyon ton tane

üretimiştir . Dünya ortalaması olarak, üretilen mısırın yaklaşık %27'si insan beslenmesinde, %73'ü hayvan beslenmesinde kullanılmaktadır (FAO, 2009).

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

MON89034 mısır çeşidi kültüre alındığında, mısır koçan kurdu (*Ostrinia nubilalis*) larvalarına karşı böcek dayanıklılık geni içermesi zararlı popülasyonunun yoğun olduğu durumlarda mısır yetiştiriciliği için önemli bir avantaj sağlamaktadır. Ancak söz konusu mısır çeşidi böcek dayanıklılık geni dışında hastalıklara dayanıklılık, diğer kültür bitkileri ile rekabet, soğuk koşullarda yaşamını sürdürme, dormansi fazına sahip olmama gibi klasik mısır çeşitlerine göre farklı bir özellik içermemektedir. Bu durumda da mısır üretim alanları dışında kendiliğinden yetişerek yaşamını sürdürme şansı bulunmamaktadır.

Ayrıca 2004 ve 2005 yıllarında ABD'de, 2004 yılında Arjantin'de MON89034 mısır çeşidi ve kontrol olarak genetiği değiştirilmemiş mısır kullanılarak yürütülen fenotipik karakteristikler ve çevre ilişkilerini hedef alan karşılaştırma denemelerinde biyolojik açıdan önemli bir farka rastlanmamıştır. Tarla verileri MON89034 mısır çeşidinin klasik mısır çeşitlerine 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 taşımasına yönelik herhangi bir bulguya da rastlanmamıştır.

### 3.2. Gen transfer potansiyeli

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

### 3.3. Bitkiden bitkiye gen transferi

Mısır yabancı döllen 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. Türkiyede GD mısırdan gen kaçışı olasılığını sınırlandıran faktörler:

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

Mısır, uygun koşullarda tarımsal ekosistem içerisinde canlılığını sürdürebilen bir türdür. İthal taleple edilen MON89034 mısır çeşidi sadece yem amaçlı olarak kullanılacaktır. Bununla birlikte kontrol edilemeyen faktörler (kaza, dikkatsizlik, kasıt vb.) ile çok az da olsa çevreye yayılma olasılığı vardır. Çevreye kazara dağılan GD mısır tohumlarından yetişen bitkilerdeki böcek dayanıklılık geninin varlığı zararlının (*Ostrinia nubilalis*) yoğun olduğu koşullarda bu bitkiler için bir avantaj gibi görünmektedir. Ancak ülkemizde bu bitkilerin doğrudan yetiştirilmesi dışında, soğuk iklim koşulları, hastalıklara duyarlılık, dormansi yokluğu, düşük

rekabet yeteneği gibi nedenlerle bu bitkilerin yaşama şansı bulunmamaktadır. Söz konusu GD mısırın genel karakteristikleri değişmediği ve kùltùre alınmadığı sürece iğerdiği genetik değişiklik seğici bir avantaj sağlamayacaktır. Bu nedenle diğer pek çok mısır çeşidinde olduğu gibi, GD mısır ùlkemizde sadece ılıman iklime sahip bölgelerde ertesini yıla kalabilme ihtimali taşımaktadır. Bu durumda da ùlkemiz çevre koşullarında gelişerek önemli popùlasyonlar oluşturma ihtimali mümkün görünmemektedir.

### 3.4. Bitkiden bakteriye gen transferi

EFSA 2004 ve EFSA 2007 de belirtilen mevcut bilimsel veriler dikkate alındığında; ancak mikroorganizmalar arasındaki uyumlu rekombinasyonlar olması durumunda gen transferi geręekleřtiđi için, doğal koşullarda GD bitkilerden mikroorganizmalara gen transferi hemen hemen imkansız görünmektedir. MON89034 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.

MON89034 mısır çeşidindeki değiştirilmiş *cry1A.105* geni, ikiye katlanmış bir enhancer bölgesini içeren Karnabahar Mozayık virüsünün (CaMV) 35SRNA yönetiminde ve e35S promotörü ile kontrol edilmektedir. MON89034 mısır çeşidindeki *cry2Ab2* geni ise *Figwort mosaic virus* promoter 35S (P-FMV) tarafından kontrol edilmektedir. Her iki promotor da prokaryotik mikroorganizmalarda sınırlı bir aktiviteye sahiptir. GD bu mısır çeşidindeki söz konusu değişiklikleri içeren genler doğada sadece belirli mikroorganizmalarda mevcuttur.

Değiştirilmiş Cry1A.105 proteini *Bt* Cry1A proteini ile amino asit dizilişi açısından Cry1Ab, Cry1Ac ve Cry1F proteinleri ile sırasıyla % 90.0, 93.6 ve 76.7 oranında bir benzerlik göstermektedir. MON89034 içindeki Cry2Ab2 sınıfı proteinlerin bir üyesi olup *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* bakterisinden izole edilen doğal Cry2Ab2 proteinin bir varyantıdır ve amino asit dizilişi açısından % 95 oranında benzerlik göstermektedir.

*cry1A.105* ve *cry2Ab2* genlerinin yapısı ve orijini dikkate alındığında çevre ve sindirim sistemindeki seleksiyon basıncının eksikliği, bu genlerin diğer mikroorganizmalara farklı bir özellik katacak yada 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 geręekleřmiř olsa bile insan ve hayvan sağlığı açısından olumsuz bir etki söz konusu olmayacaktır. Çünkü mevcut mikrobiyal komüniteye yeni bir özellik katmayacağı gibi mevcut mikroorganizmalara uyumu da son derece sınırlıdır.

### 3.5. Hedef organizmalar ile bitkilerin potansiyel etkileşimi

MON89034 mısır çeşidi mısırdaki zararlı bazı lepidoptera larvalarına dayanıklılık sağlamak amacıyla geliştirilmiş olup böcek hücrelerinin lipid membranlarında porlar oluşturarak etki eden Cry proteinlerinin değiştirilmiş Cry1A.105 and Cry2Ab2 formlarını içermektedir (Bravo ve ark., 2007; Gomez ve ark., 2007; Pigott ve Ellar, 2007; Rausell ve ark., 2004).

MON89034 mısır çeşidi ùlkemizde yetiştirilmediği sürece, taşınma, depolama ve işleme sırasında kazara etrafa dağılması ve buradan popùlasyonlar oluşturması, GD mısırla beslenen hayvanların dışkı ve gübreleri yoluyla ùlkemizdeki hedef organizmaların popùlasyonları üzerinde söz konusu proteinlere direnç risk yaratma olasılığı oldukça düşüktür.

### 3.6. GD bitkilerin hedef olmayan organizmalar ile potansiyel etkileşimi

MON89034 mısır çeşidindeki Cry1A.105 ve Cry2Ab2 proteinleri çevreye kazara dağılan tohumlardan oluşan bitkilerden veya hayvan dışkı ve gübreleri ile hedef olmayan organizmalarla karşılaşması olasıdır. Bu durumda cry proteinlerinin seğiciliği dikkate alınarak benzer taksonomik grup içinde yer alan hedef olmayan organizmaların etkilenmesi ihtimal dahilindedir (OECD, 2007). Ancak yapılan araştırmalar Cry1A.105 ve Cry2Ab2 protein

miktarının tanelerde ifade edilen protein oranının kuru ağırlık olarak 1.9-7.0 ve 0.7-3.1 µg/g arasında olduğu dikkate alınır bu şekilde çevreye dağılan protein miktarı son derece düşük olacaktır. Ayrıca pepsin içeren simüle edilmiş sıvı ortamda yürütülen denemeler rekombinant *E. coli*'de üretilen Cry1A.105 ve Cry2Ab2 proteinlerinin %99' nun 30 saniye içinde parçalandığını göstermiştir. Benzer şekilde her iki protein pankreatin içeren bağırsak sıvısında parçalanmaktadır. Özellikle Cry proteinlerinin çoğu sindirim sisteminde enzimatik aktivite sonucu tamamen parçalanmakta ve Cry1A.105 ve Cry2Ab2 proteinleri çok az bir miktarı dışkıya geçmektedir. Bu bulgular aynı zamanda Cry proteinleri ile ilgili yapılan diğer çalışmalar ile de kanıtlanmıştır (Lutz ve ark., 2005; Lutz ve ark., 2006).

Cry proteinlerinin çevreye dağılarak toprakta varlığı dikkate alındığında humik asit, kil ve organik madde-mineral kompleksine bağlanması sonucu bozunmadan kalabileceği düşünülebilir (OECD, 2007). Ancak bu konuda yapılan bir kaç çalışma topraktaki GD bitkilerde bulunan Cry proteinlerinin toprakta kalıcı olmadığı gibi herhangi bir birikimin de söz konusu olmadığını göstermektedir (Ahmad ve ark.,2005; Baumgarte ve Tebbe, 2005; Dubelman ve ark., 2005; Head ve ark., 2002; Herman ve ark., 2001; 2002; Hopkins ve Gregorich, 2005; Krogh ve Griffiths, 2007).

Sonuç olarak MON89034 mısır çeşidindeki Cry toksinlerinin çevrede mısır tanelerinin kazara dökülmesi veya hayvan dışkılarının çevreye dağılması sonrası suya veya toprağa karışan miktarın çok düşük olacağı ve lokal olarak kalacağı belirtilmektedir. Bu koşullar altında potansiyel olarak duyarlı olan hedef dışı organizmaların bu proteinlere maruz kalma olasılığı düşüktür .

## **4. Yem Güvenliğinin Değerlendirilmesi**

### **4.1. İşlemenin Etkisi**

MON89034 mısır ile geleneksel mısırın kimyasal bileşim olarak eşdeğer olduğu göz önüne alındığında işlemenin de etkisinin farklı olması beklenmemektedir.

Mısır işleme süreçlerinin pek çoğunda sıcakla muamele, hidroliz, hafif asidik suda ıslatma ve kurutma uygulanmaktadır. Cry1A.105 ve Cry2Ab2 proteinlerinin parçalanabilirliği üzerine ısının etkisini göstermek için, ortalama 15 dakika süreyle 204 °C altında protein kararlılığı incelenmiştir. Isı uygulamasından sonra kuru öğütülmüş mısırdaki tespit edilen Cry1A.105 protein miktarı %78-94 iken, Cry2Ab2 protein için %70-77 olarak belirlenmiştir. Ayrıca mısır yağı, mısır nişastası gibi birçok mısır ürünlerinde protein içeriği düşüktür. MON89034 mısırın işlenmesiyle elde edilen yem ürünlerinde Cry1A.105 ve Cry2Ab2 protein düzeylerinin işlenmemiş mısırdaki bulunduğundan daha düşük olacağı sonucuna varılmıştır (EFSA, 2008).

### **4.2. Toksikolojik Değerlendirmeler**

MON89034 mısır çeşidinde Cry1A.105 ve Cry2Ab2 proteinlerinin düşük ifade edilme oranları ve proteinin yeterli miktarda izole edilememesi nedeniyle güvenlik çalışmaları *B.thuringiensis* ve *E.coli*'den elde edilen proteinlerle yapılmıştır. *E.coli*'den elde edilen proteinlerin yapısal benzerliği ve fonksiyonel eşdeğerlilikleri çeşitli yöntemlerle doğrulanmıştır.

#### **4.2.1. MON89034 mısır çeşidinde ifade edilen yeni proteinlerin toksikolojik yönden değerlendirilmesi**

Söz konusu çeşidin geliştirilmesi için aktarılan genler *B.thuringiensis*'in farklı suşlarından elde edilmiştir. Kimerik *Cry1A.105* ve *Cry2Ab2* genlerinin kodladığı, proteinlerin lepidoptera ve lepidoptera/diptera takımlarına karşı toksik olduğu iyi bilinen, ama insan ve hayvanlarda toksik ve alerjik etkileri olduğu kesin olarak bilinmeyen proteinlerdir.

Kimerik *Cry1A.105* proteini birkaç işlevsel bölgelerden (domain) oluşmuştur; *Cry1Ab* ve *Cry1Ac*'den oluşan alan I ve II, *Cry1F*'den oluşan alan III ve *Cry1Ac*'den oluşan C-terminal alan. *Cry1Ab* ve *Cry1Ac* proteinleri alan I ve II ile %100 amino asit diziliş benzerliği gösterirken, *Cry1F* ve alan III arasındaki uygunluk daha düşük derecededir. *Cry1A.105* proteininin öteki genel Cry proteinleriyle yapılan filogenetik çalışması, genetik yönden *Cry1Ac* proteinleriyle %93.6 oranında benzerlik göstermiştir. Aynı proteinin insektisidal etkinliği

Cry1Ac, Cry1Ab ve Cry1F proteinleriyle fonksiyonel benzerlik göstermiştir. Bu üç Cry proteini ile daha önceden bilinen Cry1Ab ve Cry1F GD ürünlerde ifade edildiğinde güvenli olarak bulunmuştur. Cry1Ac proteini Cry1Ab ve Cry1F proteinleriyle yapısal yönden benzerlik göstermiştir.

#### 4.2.2. Akut Toksikite Testleri

10 erkek ve 10 dişi CD-1 farelerinde Cry1A.105 ve Cry2Ab2 proteinleriyle yapılan akut oral toksisite çalışmalarında, sırasıyla 2072 ve 2198 mg/kg/canlı ağırlık dozunda olumsuz bir etki görülmemiştir (EFSA 2008).

#### 4.2.3. *In vitro* sindirilebilirlik

Cry1A.105 ve Cry2Ab2'nin sindirilebilirliği SDS-PAGE gel boyama ve Western blot analizi kullanarak yapay mide sıvısında *in vitro* olarak araştırılmıştır. SDS-PAGE jel boyama testi pepsin içeren yapay mide sıvısında bunların 30 saniyede içinde en az %99 oranında parçalandığını göstermiştir. Bu bulgu Western blot testiyle de doğrulanmıştır.

Her 2 Cry proteini pankreatin içeren yapay bağırsak sıvısında da parçalanmıştır. Cry1A.105 proteininin birkaç parçaya ayrılarak 5 dk içinde parçalandığı Western blot testi ile gösterilmiştir. Bu parçaların en büyüğü 24 saatten fazla kalmıştır. Benzer olarak Cry2Ab2 proteinin %97.5'u yapay bağırsak sıvısında yaklaşık 5 dk sonra, diğer parçaları ise 15 dk içinde parçalanmıştır. Birkaç küçük parça 24. saatte tespit edilmişse de bunlar da daha sonra kaybolmuştur.

*In vitro* sindirim deneyleri Cry1A.105 ve Cry2Ab2 proteinlerinin sindirim enzimleriyle hızla parçalandığını göstermektedir (EFSA 2008).

#### 4.2.4. Proteinler dışında yeni bileşiklerin toksikolojik değerlendirilmesi

MON89034 mısır çeşidinde Cry1A.105 ve Cry2Ab2 proteinleri dışında ifade edilen yeni bileşik bulunmadığından (EFSA 2008) yeni bileşiklerin toksikolojik değerlendirilmesine gerek duyulmamıştır.

#### 4.2.5. MON89034'ün toksikolojik açıdan değerlendirilmesi

MON89034 mısır çeşidi ile yapılan subkronik 90 günlük besleme çalışmasında Sprague-Dawley Crl:CD ırkı sıçanlara (üç grupta 20 şer adet dişi ve erkek) mısır içeren rasyonlar verilmiştir. Gruplardan birine %33 MON89034 mısır, diğerine %11 MON89034 mısır (%22 GD olmayan mısır katkılı) ve üçüncüsüne %33 GD olmayan kontrol mısırı (LH198 X LH172) verilmiştir. Rasyonun kimyasal bileşimi ve herbisit kalıntıları ve mikotoksin oranlarını da içeren analizler yapılmıştır.

Uygulama boyunca klinik yönden bir etki gözlenmemiştir. %33 GD mısır verilen bir dişi hayvan çalışmanın 14. gününde ölmüştür. Çalışma raporuna göre nekropside mikroskopik muayeneler idrar yolları tıkanması sonucu ölüm görüldüğünü ortaya koymuştur. Ama göğüs boşluğunda 5 ml sıvının varlığı en önemli klinik bulgu olarak değerlendirilmiştir. Ölüm nedeni belirlenememiş, ancak muhtemelen GD mısırla ilgisi olmadığı sonucuna varılmıştır.

Gruplar arasında canlı ağırlık, canlı ağırlık artışı ve yem tüketiminde farklılık görülmemiştir. Her bir cinsiyet ve düzey için hematolojik, biyokimyasal ve idrar parametresi karşılaştırılmış ve yalnızca düşük düzeyde GD mısır verilen dişilerde ortalama trombosit miktarı kontrol gruplarından farklı bulunmuştur. Ancak bu değerler normal sınırlar arasında bulunmuş, ayrıca doza bağlı olmamış, erkeklerde de görülmemiştir. Bu nedenle GD mısırla ilgisi olmadığı sonucuna varılmıştır.

Nekropside organ ağırlıkları erkeklerde farklı görülmemiştir. Halbuki kontrol grubuyla karşılaştırıldığında yüksek dozda GD mısır verilen dişilerde vücut ağırlığıyla orantılı olarak ortalama tiroid/paratiroid ağırlıklarında önemli bir azalma görülmüştür. Bununla beraber bu değerler normal sınırlar arasında değerlendirilmiştir. Ayrıca mikroskopik analizlerde histopatolojik değişiklikler tespit edilmemiştir.



Organ ve dokulardaki mikroskopik bulgular eş değer dağılım göstermiş ve önemli bir fark görülmemiştir. Yüksek doz grubunun dişilerinde istatistiksel olarak böbreklerdeki değişikliğin nedeni 2 ratla ilgilidir (biri bilinmeyen nedenle 14. günde ölen sıçan, diğeri çalışmanın sonuna kadar yaşayan sıçan). Bu iki sıçandaki değişiklikler minimal kronik ilerleyen nefropati, minimal/ilımlı transitional hücre hiperplazisi, minimal sub-akut yangı ve ılımlı hidronefroz. 14. gün ölen sıçan ayrıca hafif papillar nekroz ve minimal tubuler nekroz göstermiştir. Her iki sıçanda da idrar kesesinde taş oluşmuş ve patolojiler lezyonların muhtemelen bu taşlardan kaynaklandığı sonucuna varmışlardır. İdrar kesesindeki taşın ve ilgili böbrek değişikliklerinin 14 gün boyunca mısır yedirmeyeyle oluşması olası değildir. İdrar kesesinde taş oluşmasının bu sıçan ırklarında düşük insidensli de olsa oluştuğu bilinmekte ve genellikle subkronik çalışmalarda spontan bir bulgu olarak değerlendirilmektedir (EFSA 2008).

#### **4.2.6. Alerji ile ilgili değerlendirmeler**

##### **4.2.6.1. Yeni ifade edilen proteinlerin alerjenitesinin değerlendirilmesi**

MON89034 mısır çeşidinde ifade edilen Cry1A.105 ve Cry2Ab2 proteinlerinin amino asit dizilimleri alerjen veri tabanında (AD8) yapılan karşılaştırmalarda, bilinen alerjenlerin sekanslarıyla %35 üzerinde benzerlik göstermemiştir. Yapay memeli sindirim sıvılarında proteinlerin parçalanması sonucunda alerjenite neden olabilecek parçaçıkların oluşmadığı rapor edilmiştir (EFSA 2008). Mevcut veriler ışığında yeni ifade edilen söz konusu proteinlerin alerjeniteyle ilişkili risk taşımayabileceği düşünülmektedir.

##### **4.2.6.2. Tüm GD mısır çeşidinin alerjenitesinin değerlendirmesi**

Mısır tozu ve mısır poleniyle yakın temasta bulunan kişilerde nadiren de olsa alerjik vakalar bildirilmektedir. Mısıra bağlı gıda alerjisi nadir olarak görülmektedir (Moneret-Vautrin ve ark., 1998). Ama IgE bağlayan proteinler mısır ununda bulunmuştur (Pastorello ve ark., 2000; Pasini ve ark., 2002). Mısır alerjisi atopik hastaların çok az bir kısmında belirlenmiştir. Ayrıca deri ağrı testi (SPT) pozitif olan ve mısıra karşı IgE antikoruna sahip bir çok kişi solunum alerjisine maruz kalmış ve yalnızca bir kaç tanesi mısıra oral yoldan maruz kaldığında gerçek gıda alerjisi görülmüştür. Bunun için mısır proteinlerine oral duyarlılık çok nadirdir.

Gıda allerjenitesi, bitki genomuna transgenin rastgele aktarılmasıyla istenmeyen bir şekilde artabilir. Ancak, teorik olarak herhangi bir endojen proteininin, MON89034 mısır çeşidinde aşırı olarak ifade edilse bile allerjeniteye neden olma olasılığı bulunmamaktadır (EFSA, 2008).

##### **4.2.7. MON89034 'ün hayvan besleme ile ilgili değerlendirilmesi**

Etlik piliçlerde 42 gün süren besleme çalışmasında 50 erkek 50 dişi bulunan altı deneme grubu oluşturulmuştur. Birinci deneme grubu rasyonunda MON89034 mısır kullanılırken, ikinci deneme grubuna GD olmayan (MON89034 mısır ile benzer genetik kökenli) (LH198 x LH172) mısır ve diğer dört grupta ticari olmayan GM mısır çeşitleri (ASGROW RX690, ASGROW RX772, DKC60-15 ve DKC57-01) kullanılmıştır. Mısır deneme gruplarının başlangıç dönemi rasyonlarına yaklaşık olarak % 55, piliç ve bitirme dönemi rasyonlarına % 59 oranında ilave edilmiştir. Denemede tüm gruplarda oldukça düşük mortalite oranları tespit edilmiştir. Etlik piliçlerin MON89034 içeren rasyonlarla beslenmesi sonucunda toplam yem tüketimi, yemden yararlanma oranı büyüme üzerinde olumsuz bir etkisi gözlenmemiştir. Ancak, MON89034 mısır ve kontrol grubunun erkek etlik piliçleri arasında yemden yararlanma oranı bakımından istatistiksel olarak anlamlı küçük bir farklılık (1.64 ve 1.59 kg/kg) gözlenmiştir. Diğer dört geleneksel grubun yemden yararlanma oranı (1.52, 1.53, 1.54 ve 1.61 kg/kg) ile MON89034 mısır grubunun değerleri karşılaştırıldığında istatistik bakımdan farklı olmadığı saptanmıştır. MON89034 mısır ve diğer gruplardaki piliçler arasında soğuk karkas randımanı, iç yağ, göğüs kası, but ve kanat ağırlığı ile but ve göğüs etinin nem, protein ve yağ oranı açısından fark saptanmamıştır. Elde edilen sonuçlar MON89034 mısırın GM olmayan mısır ve konvansiyonel mısır çeşitleriyle karşılaştırıldığında besin değerlerinin eşdeğer olduğunu göstermiştir (EFSA, 2008; Taylor ve ark. 2007).

MON 89034 mısırın besi sığırlarında performans üzerine etkilerini saptamak için iki deneme yapılmıştır. Deneme 1'de, transgenik ve melez mısır silajı içeren rasyonlarla beslenen yaklaşık 240 kg canlı ağırlığındaki besi sığırlarının performansı karşılaştırılmıştır. Deneme 2'de transgenik ve hibrit mısır artıklarıyla otlatılan besi sığırlarının performansları karşılaştırılmıştır. Her iki denemede de, büyüme performansının transgenik ve konvansiyonel mısırla beslenmeden etkilenmediği değerlendirilmiştir (Weber ve ark., 2011).

## 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).

MON89034 mısır çeşidinin elde edilmesinde kullanılan gen aktarım yöntemi ve aktarılan genlerin moleküler karakterizasyonu ile ilgili literatür incelendiğinde bilinen herhangi bir olumsuz sonuca rastlanılmamıştır. Aynı şekilde üretilen proteinlerinin, yapılan biyoinformatik analizler sonucunda bilinen bir alerjen veya toksik proteinle homolojisine rastlanılmamıştır. MON89034 mısır çeşidinin 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 alerjik farklılıklar ortaya çıkmadığı görülmüştür.

MON89034 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 MON89034 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 yetkili kuruluşlar tarafından izlenmesi gereklidir.

Sonuç olarak, var olan bilgiler ışığında MON89034 mısır çeşidinin yem olarak kullanılması halinde insan, hayvan ve çevre sağlığı açısından kayda değer bir risk taşımayabileceği kanaatine varılmıştır.

## KAYNAKLAR

- Ahmad, A., Wilde G.,E., Zhu K., Y. (2005). Detectability of Coleopteran-specific Cry 3Bb1 protein in soil and its effect on nontarget surface and below-ground arthropods. *Environ. Entomol.*, 34: 385-394.
- Barton, K. A., Whiteley, H. R., Yong, N. (1987). B. thuringiensis delta-endotoxin expressed in transgenic *Nicotiana tabacum* provides resistance to lepidopteran insects. *Plant Physiol.*, 85: 1103-1109.
- Baumgarte, S., Tebbe, C.C. (2005). Field studies on the environmental fate of the Cry1AB Bt toxin produced by transgenic maize (MON810) and its effect on bacterial communities in the maize rhizosphere. *Mol. Ecol.* 14, 2539-2551.
- Berliner, E. (1911). Ueber die Schlaftsucht der Nehmottenraupe (*Ephestia kuhniella* Zell) unihren Erreger *Bacillus thuringiensis* n.sp. *Zeitschrift fur angewandtes Entomol.*, 21: 29-56.
- Bravo, A., Gill, S. S., Soberon, M., 2007. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. *Toxicon*, 49, 423-435.

- Dubelman, S., Ayden, B., Bader, B., Brown, C., Jiang, C., Vlachos, D., (2005). Cry1Ab protein does not persist in soil after 3 years of sustained Bt corn use. *Environ. Entomol.* 34,915-921.
- Drury, S.M., Bogdanova, N. Sorbet, R. Reynolds, T.L. Tracey L. Riordan, S., Trujillo, W.A., Ridley, W.P., Nemeth, M. A., Breeze, M.L. (2008). Composition of forage and grain from second-generation insect-protected corn MON 89034 is equivalent to that of conventional corn (*Zea mays* L.). *J. Agric. Food Chem.*, 56(12):4623-4630.
- EFSA (2008). 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](http://www.efsa.europa.eu/etc/medialib/efsa/science/gmo/statements/npt2.Par.0001.File.dat/gmo_statement_%20nptII.pdf)
- FAO (2009). <http://faostat.fao.org/site/567>.
- Fischhoff, D.A., Bowdish, K.S., Perlak, J., Marrone, P.G., McCormick, S.M., Niedermeyer, J.G., Dean, D.A., Kusana-Krelzmer, K., Mayer, E.J., Rochester, D.E., Rogers, S.G., Fraley, R.T. (1987). Insect tolerant transgenic tomato plants. *Biotechnology* 5: 807\_813.
- Gomez, I., Pardo-Lopez, L., Munoz-Garay, C., Fernandez, L. E., Perez, C., Sanchez, J., Soberon, M. & Bravo, A., (2007). Role of receptor interaction in the mode of action of insecticidal Cry and Cyt toxins produced by *Bacillus thuringiensis*. *Peptides* 28, 169-173.
- Head, G., Surber, J.B., Watson, J.A., Martin, J.W., Duan, J.J. (2002). No detection of Cry1Ac protein in soil after multiple years of transgenic Bt cotton (Bollguard) use. *Environ. Entomol.* 31, 30-36.
- Herman, R.A., Evans, S.L, Shanahan D.M., Mihaliak, C.A., Bormett, G.A., Yound, D.L., Buehrer, J. (2001). Rapid degradation of Cry1F delta-endotoxin in soil. *Environ. Entomol.* 30, 642-644.
- Herman, R.A., Wolt, J.D., Halliday, W.R. (2002). Rapid degradation of the Cry1F insecticidal crystal protein in soil. *J. Agric. Food Chem.* 50, 7076-7078.
- Hopkins, D.W., Gregorich, E.G. (2005). Decomposition of residues and loss of the  $\delta$ -endotoxin from transgenic (Bt) corn (*Zea mays* L.) in soil. *Can. J. Soil Sci.* 85, 19-26.
- Kirtok, Y. (1998). Mısır Üretimi ve Kullanımı. Pendik Nişasta Sanayi A.Ş.
- Krogh, H., Griffiths B. (2007). ECOGEN – Soil ecological and economic evaluation of genetically modified crops. *Pedobiologia* 51, 171-173.
- Kurt, O. (2010). Bitki Islahı. OMU Ziraat Fakültesi Yayın No: 43 (3. Basım).
- Lutz, B., Wiedermann, S., Albrecht, C. (2006). Degradation of transgenic Cry1Ab DNA and protein in Bt-176 maize during the ensiling process. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 90, 116-123.
- Lutz, B., Wiedermann, S., Einspanier, R., Mayer, J., Albrecht, C. (2005). Degradation of Cry1Ab protein from genetically modified maize in the bovine gastrointestinal tract. *J Agric Food Chem.* 53, 1453-1456.
- 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.
- Pigott, C. R., Ellar, D. J. (2007). Role of receptors in *Bacillus thuringiensis* crystal toxin activity. *Microbiology And Molecular Biology Reviews* 71, 255.
- Rausell, C., Garcia-Robles, I., Sanchez, J., Munoz-Garay, C., Martnez-Ramirez, A. C., Real, M. D., Bravo, A.(2004). Role of toxin activation on binding and pore formation activity of the *Bacillus thuringiensis* Cry3 toxins in membranes of *Leptinotarsa decemlineata* (Say). *Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes* 1660, 99-105.
- 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
- Taylor, M. Hartnell, G. Nemeth, M. Lucas, D. and Davis, S. (2007). Comparison of broiler performance when fed diets containing grain from second-generation insect-protected and glyphosate-tolerant, conventional control or commercial reference corn. *Poult. Sci.*, 86:1972–1979.

- Vaeck, M., Reynearts, A., Höfte, H., Jansens, S., Beuckeleer, M. D., Dean, C., Zabeau, M., Montagu, M. V., Leemans, J. (1987). Transgenic plants protected from insect attack. *Nature*, 328: 33-37.
- Weber, B.M., Benton, J.R. Nuttelman, B.L., Erickson, G., Griffin, W.A. Klopfenstein, T. (2011). Performance of growing cattle fed corn silage or grazing corn residue from second generation insect-protected (MON 89034), parental, or reference corn hybrids. *Animal Science Department, Nebraska Beef Cattle Report, University of Nebraska - Lincoln* Page 16-17 [<http://digitalcommons.unl.edu/animalscinbcr/643>]
- Weiser, C. (1986). Impact of *Bacillus thuringiensis* on applied Entomology, In: Krieg, A. and A. M. Huger, (Eds.). In *Mitt. Biol. Bundesanstalt Land Forstwirtschaft. Berl. Dahlem. Paul Parcey, Berlin, Germany*, pp:37-49.