

## RAPOR :

### **YEM AMACIYLA İTHALİ İSTENEN GENETİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ DAS1507xNK603 MISIR ÇEŞİDİ VE ÜRÜNLERİ İÇİN BİLİMSEL RİSK DEĞERLENDİRME RAPORU**

#### **RAPORUN HAZIRLANIŞ GEREKÇESİ VE DAYANAKLARI**

Bu rapor, Lepidopter mısır kurtlarına (*Ostrinia nubilalis* ve *Sesamia* spp.) dayanıklı ve glifosinat amonyum ile glifosat herbisitlerine tolerant genetiği değiştirilmiş (GD) DAS1507xNK603 mısır çeşidinin yem amaçlı ithalatı için, 5977 sayılı Biyogüvenlik Kanunu ve ilgili yönetmelik uyarınca Biyogüvenlik Kurulunun 03.03.2011 tarih ve 6 nolu kararı ile oluşturulan ve bu karar doğrultusunda görevlendirilen Bilimsel Risk Değerlendirme Komitesi tarafından hazırlanmıştır. Rapor hazırlanırken çeşitle ilgili ithalatçı firmaca dosyada sunulan belgeler, risk değerlendirilmesi yapan muhtelif kuruluşların (EFSA, WHO, FAO, FDA) görüşleri ve bilimsel araştırmaların sonuçları ile farklı ülkelerde üretim ve tüketim durumları göz önünde bulundurulmuştur. Risk değerlendirmesi gen aktarım yöntemi, aktarılan genin moleküler karakterizasyonu ve ürettiği proteinin ifadesi, çeşidin muhtemel alerjik ve toksik etkileri ile çevreye olası riskleri dikkate alınarak yapılmıştır.

#### **İTHALATÇI KURULUŞ**

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

#### **İTHAL EDİLMEK İSTENEN ÇEŞİT VE ÜRÜNLERİ**

Lepidoptera takımındaki mısır kurtlarına dayanıklı ve glifosinat amonyum ile glifosat herbisitlerine tolerant genetiği değiştirilmiş DAS1507xNK603 kodu ile tanımlanan GD mısır ve küspesi

#### **ÇEŞİDİ GELİŞTİREN KURULUŞ**

Pioneer / Dow AgroScience

#### **ÇEŞİDİN GELİŞTİRİLME AMACI VE ÜRETİMİ**

Kültür bitkilerinin ışık, su ve besin maddelerine ortak olarak önemli oranda verim ve kalite düşüklüğüne neden olan yabancı otlarla mücadele genel olarak çapalama, elle yolma ve kimyasal herbisitlerle yapılmaktadır. Yapılan yoğun mücadeleye rağmen yine de yabancı otlar tarım alanlarında önemli oranlarda verim kaybına ve ürün kalitesinin düşmesine neden olmaktadır. Klasik ıslah yöntemleriyle bazı bitki türlerinde herbisitlere dayanıklı çeşitler geliştirilmiş olmakla birlikte, az sayıda türle sınırlı kalmıştır. Öte yandan son yıllarda geliştirilen biyoteknolojik yöntemlerle *bar/pat*

veya *epsps* gibi genlerin bitkilere aktarılmasıyla glifosinat amonyum ve glifosat herbisitlerine toleranslı GD bitkiler kolaylıkla elde edilebilmektedir. Dünyada 2010 yılında geniş spektrumlu glifosinat amonyum ve glifosat herbisitlerine toleranslı (HT) soya üretimi 73 milyon hektara ulaşırken, HT kolza üretimi ise 7 milyon hektar civarında olmuştur (James 2011). Aynı şekilde HT şeker pancarı ve yonca tarımı da yaygınlaşırken, son yıllarda hem böceklerle dayanıklı (*Bt*) hem de HT mısır ve pamuk bitkilerinin üretiminde önemli artışlar gözlenmektedir. Genel olarak HT bitkilerin üretildiği alanlarda verimde önemli artışlar gözlenmezken, seçici herbisitlerle mücadelesi zor olan bazı yabancı otların kontrol edilmesinde HT bitkiler başarılı bir şekilde üretilebilmekte ve verim artışı sağlanabilmektedir (Brookes ve Barfoot 2005). HT bitkilerin getirmiş olduğu en önemli avantajlar ise işçilik, mekanizasyon ve akaryakıt maliyetlerindeki azalmadır (Özcan 2011).

Son yıllarda böcek zararında meydana gelen artışlar, bitkisel üretimi tehdit eder hale gelmiştir. Böceklerle mücadele yapılmadığı takdirde, patates, pamuk, buğday ve mısır gibi bitkilerin veriminde büyük ölçüde azalma meydana gelebilmektedir. Bundan dolayı bu bitkilerde zararlı böceklerle karşı ilaçlama sayısı öngörülenin üzerine çıkabilmektedir. Yoğun bir ilaçlamaya rağmen, böcek zararının oluşturduğu ürün kayıpları %15-20 arasında değişebilmektedir. Zararlı böceklerle mücadelede kültürel ve biyolojik savaş yöntemleri kullanılsa da, en etkili ve yaygın olan yöntem kimyasal insektisit kullanımınıdır. Ancak, bitki kök, gövde ve meyvesi içerisinde gelişme gösteren böcek larvalarına karşı insektisit kullanımı etkisiz olabilmektedir. Öte yandan, tarım ilaçları içerisinde insektisitler çevre, insan ve hayvan sağlığını en fazla tehdit eden grup olarak değerlendirilmekte olup, insanlar tarafından ilaçlama sırasında ve ürünlerle kalıntı şeklinde alındığında geri dönüşümü olmayan biyolojik ve genetik hasarlara yol açabilmektedirler. Yoğun insektisit kullanımı ekonomik kayıplara neden olduğu gibi; toprak ve su kaynaklarının kirlenmesine, arılar, toprak solucanları ve bitkisel üretim için gerekli olan faydalı böceklerle de zarar verebilmektedir. Ayrıca, zararlı böceklerin zamanla kullanılan insektisitlere karşı direnç kazanması sonucunda daha etkili ve toksik insektisitlerin kullanımı da giderek yaygınlaşmaktadır (Çakır ve Yamanel 2005, Özcan 2009). Klasik bitki ıslahıyla böceklerle dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi de belirli türlerle sınırlı kalmaktadır. Diğer taraftan, *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) bakterisine ait delta-endotoksin proteinlerinin sentezinden sorumlu olan *cry* (kristal) genlerin bitkilere aktarılmasıyla önemli zararlı böceklerle karşı dayanıklı kültür çeşitleri geliştirilebilmektedir. Dünyada 2010 yılında böceklerle dayanıklı (*Bt*) mısır üretimi 46 milyon hektara ulaşırken, *Bt* pamuk üretimi ise 21 milyon hektarı bulmuştur. En fazla *Bt* mısır üretimi ABD, Arjantin, Kanada ve Güney Afrika gibi ülkelerde gerçekleşirken, Hindistan başta olmak üzere ABD, Çin ve Pakistan en fazla *Bt* pamuk üreten ülkelerdir. *Bt* mısır ve pamuğun yaygın olarak üretildiği ülkelerde dolaylı olarak verimde %30'lara varan artış sağlanırken insektisit kullanımında da önemli azalmalar gözlenmektedir (Qaim 2009, Sadashivappa ve Qaim 2009). Dayanıklı *Bt* pamuk ve mısır çeşitleri sayesinde insektisit ve ilaçlama için harcanan yakıt maliyeti en aza indirilerek, verim artışıyla birlikte ürün kalitesinde de önemli gelişmeler gözlenmiştir (Özcan 2011).

Böceklerle dayanıklı ve herbisitlere toleranslı GD bitkilerin 2010 yılındaki toplam ekim alanı 29 ülkede 148 milyon hektara ulaşmış ve 57 farklı ülkede de yem ve gıda olarak tüketime sunulmuştur (James 2011). GD bitkilerin yarıya yakını ABD'de üretilmekte olup, bu ülkeyi sırasıyla Brezilya, Arjantin, Hindistan, Kanada, Çin, Paraguay ve Pakistan gibi ülkeler takip etmektedir. Üretimi yapılan en önemli GD bitki türleri ise

herbisitlere dayanıklı soya ve kolza ile böceklere dayanıklı mısır ve pamuktur. 2010 yılında ABD’de üretilen soyanın %91’i mısırın %85’i ve pamuğun %88’i GD çeşitlerden oluşmuştur. Aynı şekilde Arjantin, Uruguay ve Paraguay’da üretilen soya ile Kanada’da üretilen kolzanın ve Hindistan’da üretilen pamuğun %90’dan fazlasını GD çeşitler oluşturmaktadır.

Bu başvuruda, mısır kurtlarına dayanıklı ve glifosinat ile glifosat herbisitlerine tolerant GD DAS1507xNK603 mısır çeşidi için yem amaçlı ithal izni talep edilmektedir. GD DAS1507 mısır çeşidine esas olarak *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* hattından izole edilen ve mısır kurtlarına dayanıklılığı sağlayan **cry1F** ile glifosinat amonyum herbisitine karşı toleransı sağlayan *Streptomyces viridochromogenes* kökenli fosfinotrisin asetil-transferaz (**pat**) genleri aktarılırken, NK603 çeşidine ise *Agrobacterium tumefaciens*’den izole edilen ve **glifosat** herbisitine toleransı sağlayan **cp4 epsps** geni aktarılmıştır. Aynı ayrı elde edilen her iki çeşit, normal ıslah yöntemleriyle melezlenerek tüm özellikler GD DAS1507xNK603 melez mısır çeşidinde toplanmıştır.

## RİSK ANALİZİ VE DEĞERLENDİRMESİ

GD DAS1507xNK603 mısır ve ürünlerine ait bilimsel risk analiz ve değerlendirilmesi, bu çeşidin geliştirilmesinde kullanılan gen aktarım yöntemi, aktarılan genin moleküler karakterizasyonu ve ürettiği protein, besin değeri, muhtemel alerjik, toksik ve çevreye olası kaçıışı ile oluşabilecek riskler dikkate alınarak yapılmıştır.

Bu çeşitle ilgili bilimsel risk değerlendirilmesi yapılırken, çeşitle ilgili ithalatçı firmaca dosyada sunulan belgeler, risk değerlendirilmesi yapan kuruluşların (EFSA, WHO, FAO, FDA) raporları ve bilimsel araştırmaların sonuçları (alerjik ve toksijenik etki analizleri, genetik modifikasyonun stabilitesi, morfolojik ve agronomik özellikler, hedef dışı organizmalara etkisi vb.) ile farklı ülkelerde üretim ve tüketim durumları göz önünde bulundurulmuştur. Bu GD çeşidiyle yapılan hayvan besleme çalışmaları da incelenerek, yem olarak kullanımı sonucu ortaya çıkabilecek riskler değerlendirilmiştir. Ayrıca bu çeşide ait tohumların kaza ile doğaya yayılarak yetişmesi halinde ortaya çıkabilecek tarımsal ve çevresel riskler de dikkate alınmıştır.

GD DAS1507 mısır çeşidine esas olarak *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* hattından izole edilen ve özellikle Lepidoptera takımından mısır kurdu (*Ostrinia nubilalis*) ve mısır koçan (*Sesamia* spp.) kurtlarına dayanıklılığı sağlayan **cry1F** ile glifosinat amonyum herbisitine karşı toleransı sağlayan *Streptomyces viridochromogenes* kökenli fosfinotrisin asetil-transferaz (**pat**) genleri aktarılırken, GDNK603 çeşidine ise *Agrobacterium tumefaciens*’den izole edilen ve **glifosat** herbisitine toleransı sağlayan **cp4 epsps** geni aktarılmıştır. Aynı ayrı elde edilen her iki çeşit, normal ıslah yöntemleriyle melezlenerek mısır kurtlarına dayanıklılık ile glifosinat amonyum ve glifosat herbisitlerine toleranslılık GD DAS1507xNK603 mısır çeşidinde birleştirilmiştir.

## GD DAS1507

- **Aktarılan genleri taşıyan vektörlerin yapısı ve gen aktarım yöntemi**

Taşıyıcı olarak pH8999 vektörüne öncelikle *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* orijinli **cry1F** ve bu geni kontrol eden ubiquitin promotör *ubiZM1* ve *Agrobacterium tumefaciens* orijinli mannopin sentez genine ait terminator bölgesi ve glifosinat herbisitine toleransı sağlayan *Streptomyces viridochromogenes* orijinli **pat** geni ile bu geni kontrol eden karnabahar mozayik virüsüne ait **35S** promotör ve terminatör bölgeleri klonlanmıştır. Klonlamadan önce her iki genin kodlama bölgesi mısırdaki yüksek düzeyde ifadesi için optimize edilmiştir. Daha sonra bu vektör **Pme I** enzimiyle kesilerek 6235 bp ve 3269 bp olmak üzere iki parçaya ayrılmıştır. pH8999A olarak isimlendirilen ve *cry1F* ile *pat* ekspresyon kasetlerini içeren büyük vektör parçası jel elektroforesis işleminden sonra saflaştırılmıştır. Saflaştırılan pH8999A vektör parçası **partikül bombardımanı** ile embriyogenik Pioneer Hi-II mısır hücrelerine aktarılmıştır (Cambers ve ark 1991, OECD 1999, EFSA 2005).

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

Yapılan Southern blot analizinde GD DAS1507 mısır çeşidinde *cry1F* ve *pat* ifade kasetlerinin tam ve tek kopya olarak bitki genomuna entegre olduğunu, kaset içerisinde yeni bir düzenlemenin olmadığı ve vektörden herhangi bir DNA parçasının bitki genomuna geçmediği belirlenmiştir. Ancak, yapılan analizlerde bitki genomunda aktarılan pH8999A DNA parçasının 5' ucunda parça halinde ve 335 bp uzunluğunda ikinci bir *cry1F* dizininin ve yine tam olmayan *pat* geni, mısır ubiquitin promotörü ile mannopin sentez terminatör bölgeleri de bulunmuştur. Ayrıca, PCR analiz sonuçları da pH8999A'nın bitki kromozomuna yerleştiği noktalarda DNA eksilmelerinin olmuş olabileceğini işaret etmiştir. Ancak, böyle bir parça eksilmesi gen aktarımı yapılan mısır hattında fenotipik bir değişikliğe yol açmamıştır. İlave olarak, aktarılan genlerin nesiller boyunca da stabilitesini devam ettirdiği gözlenmiştir.

Cry1F ve PAT proteinlerinin GD DAS1507 mısır çeşidinin farklı organlarındaki ifade düzeyleri Western ve ELISA testleriyle belirlenmiştir. Western analizinde farklı bitki dokularından izole edilen toplam protein içeriğinde beklenen 66 kDa Cry1F proteinine eşdeğer 65-68 kDa büyüklüğünde iki bant elde edilmiştir. En yüksek Cry1F protein üretimi ortalama 20 ng/mg (kuru doku ağırlığı) ile polenlerde bulunmuştur. Tüm bitki ekstraktında Cry1F protein miktarı 1.0 ile 6.9 ng/mg olurken, bu değer tohumlarda 1.2-3.1 ng/mg aralığında değişmiştir. Cry1F protein ifadesi glifosinat uygulamasından etkilenmemiştir. Alınan yaprak örneklerinde PAT proteininin Western analizinde beklendiği şekilde yalnızca 22 ve 43 kDa büyüklüğünde iki bant elde edilmiştir. Ölçülebilen PAT protein ifadesi yapraklarda (0-136.8 pg/μg toplam protein) ve tüm bitkide (0-38.0 pg/μg toplam protein) bulunmuştur. Tohumlarda ise PAT protein seviyesi ise ölçülebilen miktarın altında kalmıştır. Ayrıca, GD **DAS1507** mısır çeşidine aktarılan trans-genlerin moleküler ve genetik açıdan kararlı olduğu, farklı çevresel koşulları ile farklı genotiplerde ve generasyonlar boyunca gösterilmiştir.

## GD NK603

- **Aktarılan genleri taşıyan vektörlerin yapısı ve gen aktarım yöntemi**

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

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

Yapılan moleküler analizlerde GD NK603 çeşidinin her iki *ctp2-cp4 epsps* ekspresyon kasetini de taşıdığı ve ilk kasette değişiklik olmazken, ikinci kasette 2 nükleotidlik bir değişiklik meydana gelerek 214. amino asit pozisyonunda prolininin yerine lösin üretilmiştir. Yapılan Southern blot ve PCR analizlerinde PV-ZMGT32L DNA parçasının tek kopya halinde bitki genomuyla birleştiği ve plazmid DNA'ya ait başka DNA parçasının bitki genomuyla birleşmediği belirlenmiştir. Aktarılan DNA parçasında ufak çaplı bazı yeni düzenlemeler oluşmuş ise de, gen ifadesini etkilememiş ve gen aktarımı yapılan mısır hattında fenotipik bir değişikliğe yol açmamıştır. Ek olarak, aktarılan genlerin nesiller boyunca da stabilitesini devam ettirdiği gözlenmiştir (EFSA 2003).

### **GD DAS 1507 X NK603**

GD DAS1507 ve NK603 mısır hatları melezlenerek Lepidoptera takımındaki böceklere dayanıklı ve iki farklı herbisite tolerant DAS1507xNK603 çeşidi elde edilmiştir. Yürütülen DNA-DNA melezlemesi (Southern blot) analizlerinde bazı yeni düzenlemelerin olduğu gösterilmiş ise de, GD DAS1507 ve NK603'e ait genetik materyalin DAS1507xNK603'te birleştiği ve aktarılan genlerin korunduğu teyit edilmiştir (EFSA 2006).

Şili'de yürütülen denemelerden elde edilen yeşil ve tohum materyalinde Cry1F, PAT, ve CP4 EPSPS proteinlerinin ifade düzeyine bakılmıştır. Tohumlarda PAT proteinine rastlanmazken, Cry1F ve CP4 EPSPS protein seviyeleri sırasıyla 1.37-1.57 ve 6.62-8.25 ng/mg kuru ağırlık, arasında olmuştur.

**Sonuç olarak**, daha önce GD DAS1507 ve NK603 çeşitlerinde ayrı ayrı genetik stabilite belirlendiği şekilde, ilgili genler GD DAS1507xNK603 çeşidinde birleşmiş ve genetik yapı ile protein üretimi yeni çeşitte korunmuştur.

## **Kimyasal Bileşim ve Tarımsal Özelliklerin Risk Analizi**

- **Kimyasal Bileşim Analizi**

### **GD DAS1507**

Söz konusu analizler, tarla denemeleri sırasında hasat edilen tohumlarda, çeşitli hayvan türlerinde gerek performans ve gerekse laboratuvar çalışmalarını kapsamaktadır. Tarla denemelerinden sağlanan bitkilerin farklı kısımlarında; lif bileşenleri, mineraller, vitaminler, amino asitler, yağ asitleri, protein ve diğer besin madde bileşenleri, ADF, NDF, fitik asit, tripsin inhibitörleri, furfural ve ferulik asit, p-kumarik asit, inositol ve rafinoz analizleri yapılmıştır. Bu analizlerde, GD DAS1507 mısır çeşidi ile genetiği değiştirilmemiş eşdeğeri arasında farklılıklar (artma/azalma) gözlense de, bu farklılıklar doğal değişim sınırları içinde kalmıştır (Andersson ve ark 2004, MacKenzie ve ark 2007). Ayrıca, kanatlı ve sıçanlarda yapılan çalışmalarda, performans değeri incelenmiş ve sonuçta GD DAS1507 mısır çeşidinin genetiği değiştirilmemiş eşdeğerine göre benzer sonuçlar gösterdiği ortaya konulmuştur (Stein ve ark 2009, EFSA 2005).

### **GD NK603**

GD NK603 ile ilgili gerek tarla denemeleri ve gerekse kimyasal bileşim analizleri, tarla denemeleri sırasında hasat edilen tohumlarda, çeşitli hayvan türlerinde gerek performans ve gerekse laboratuvar çalışmalarını kapsamaktadır. Bu analizlerde, GD NK 603 mısır çeşidi ile genetiği değiştirilmemiş eşdeğeri arasında farklılıklar (artma/azalma) gözlense de, bu farklılıklar doğal biyolojik değişim sınırları içinde kalmıştır (Esteve-Garcia ve Llaurodo 1997, Kidd ve Kerr 1997, Lei ve Van Beek 1997, Smith ve ark 1998, Farran ve ark 2000, Peak ve ark 2000, Grey 1983). Ayrıca, kanatlı, besi sığırı, süt ineği, domuz ve sıçanlarda yapılan çalışmalarda, performans değeri incelenmiştir.

- Broylerlerde yapılan ve 42 süren bir araştırmada (Taylor ve ark 2003), GD NK603 mısır çeşidinin besi performansı ve karkas özelliklerine etkisi irdelenmiştir. Çalışma sonunda NK 603 mısır çeşidinin, broylerlerde ölüm oranı, canlı ağırlık kazancı, yemden yararlanma ve karkas verimi parametreleri açısından genetiği değiştirilmemiş eşdeğeri ile istatistik yönden farklılık olmadığı vurgulanmıştır. Ayrıca NK603 mısır çeşidinin besinsel değerlerinin eşdeğeri ile benzerlik gösterdiği belirtilmiştir.
- Besi sığırlarında ve süt ineklerinde yapılan çalışmalarda (Erikson ve ark 2003, Grant ve ark 2003, Ipharraguerre 2003) GD NK603 mısır çeşidinin besin madde değeri açısından genetiği değiştirilmemiş eşdeğeri ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.

- William ve ark (2002), yaptıkları bir çalışmada dokuz farklı tarlada iki yıl boyunca elde edilen ürünlerde besin madde yönünden analizler yapılmış ve NK603 mısır çeşidinin eşdeğeri ile benzerlik gösterdiği belirtilmiştir. Ayrıca elde edilen ürünlerde olumsuz bir etkiye de rastlanılmadığı vurgulanmıştır.
- GD NK603 mısır çeşidi ile yapılan tüm hayvan denemeleri sonucunda hayvanların sağlığı açısından olumsuz bir tablonun görülmediği kanısı ağırlık kazanmıştır (Esteve-Garcia ve Llaurodo 1997, Kidd ve Kerr 1997, Lei ve Van Beek 1997, Smith ve ark. 1998, Farran ve ark. 2000, Peak ve ark 2000, Grey 1983, Willam ve ark 2002, Taylor ve ark 2003, Erikson ve ark 2003, Grant ve ark 2003, Ipharraguerre 2003).

**Sonuç olarak;** Bilimsel Komite, **GD DAS1507xNK603** melez mısır çeşidinin yem amaçlı kullanılmasını genel olarak değerlendirdiğinde; yapılan birçok hayvan besleme çalışmalarında incelemeye alınan parametreler açısından genetik olarak değiştirilmemiş çeşidi ile istatistik olarak önemli farklılıkların olmadığı veya benzer olduğu sonucuna varmıştır.

- **Tarımsal Özelliklerin Analizi**

*cry1F* ve *cp4 epsps* ile *pat* genlerini içeren GD DAS1507xNK603 melez mısır çeşidi ile GD olmayan eşdeğeri arasında morfolojik, büyüme, dormansi özellikleri, erken dönemde dona tolerans, polen boyutu ve dölllenme kabiliyeti, tohum üretimi gibi özellikler bakımından bir fark olmadığı saptanmıştır (EFSA 2005, Center for Environmental Risk Assessment 2011, Biopesticides Registration Action Document 2010, Zabik ve ark 2003, Canadian Food Inspection Agency 2002, JBCH 2002, 2004, EFSA 2003, Hin 2001). Ayrıca *cry1F* ve *cp4 epsps* ile *pat* genlerini içeren bir üçlü melez olan MON89034xDAS1507xNK603 hattında da benzer sonuçlar elde edilmiş tarımsal, fenotipik ve ekolojik karakterler tarla koşullarında analiz edilmiş ve sap sayısı, tohumluk gücü, %50 polen salınımı ve püskülleme günleri, koçan yüksekliği bitki yüksekliği, yeşil kalma süresi, düşük koçan, yatma, kök yayılımı, dane nemi, hektolitre ağırlığı, verim, biyotik ve abiyotik stres faktörlerine tepki bakımından GD olmayan eşdeğerleriyle denkliği kabul edilmiştir (EFSA 2010).

**Sonuç olarak;** Bilimsel Komite, GD DAS1507xNK603 mısır çeşidinin yukarıda belirtilen besin içeriği, kimyasal bileşimi ve tarımsal özellikleri açısından, genetik olarak değiştirilmemiş çeşitlerle benzer olduğu sonucuna varmıştır.

## **Toksisite Değerlendirilmesi**

### **GD DAS1507**

GD bitkilerin toksisite çalışmaları, bitkiye aktarılan genlerin kodladığı PAT ve Cry1F proteinlerine yönelik olarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmalar, saflaştırılmış Cry proteinlerinin uygulanması ve genetiği değiştirilmiş mısır çeşitlerinin hedef hayvanlara (fare, sıçan, kümes hayvanları, domuz, koyun, keçi, inek gibi ruminantlar ve balık) yedirilmesi ile gerçekleştirilmiştir. Cry1F ve PAT proteinlerini üreten DAS 1507 mısır çeşidi ile sıçanlar 13 hafta süre ile beslenmişlerdir. Bu çalışmada, incelenen tüm

parametreler (histopatolojik, biyokimyasal ve hematolojik) açısından DAS 1507 GD mısır çeşidinin değiştirilmemiş mısır çeşidi kadar besin ve toksikolojik yönden güvenli olduğu belirtilmektedir (MacKenzie ve ark 2007).

Cry1F proteinini üreten GD DAS1507 mısır çeşidi (TC1507 Heculex1) tavuk yemi olarak kullanılmıştır. TC1507 Heculex1 mısırın ürettiği Cry1F proteini MON 810 mısır çeşidinin ifade ettiği Cry 1Ab benzemektedir. Ancak PAT proteinini de üretmesi açısından da incelenmek üzere yapılan bu çalışmada da izogen eşdeğeri ile karşılaştırıldığında besinsel ve toksikolojik açıdan fark bulunmamıştır (Scheideler ve ark 2008).

Zhang ve Shi (2011) yaptıkları bir derleme yayında, GD DAS1507 gibi GD mısır çeşitlerinde ifade edilen PAT ve Cry proteinleri ile kısa (28 gün) ve uzun (90gün) süreli yapılan çalışmalarda üreme sistemleri üzerinde ovaryum ve testis dokularının histolojik incelenmesi ile üreme siklusu üzerinde de olumsuz ekinin olmadığını belirtmektedir.

GD DAS1507 mısır çeşitleri ile yapılan çalışmalardan Domingo ve Bordonaba (2011) tarafından yapılan derleme yayında toksikolojik ve alerjik etkisinin olmadığı bildirilmiştir.

GD DAS1507 mısır çeşidi orijinal olarak toprak organizmalarından aktarılan Bt toksin (Cry1F) proteinini üretir. DAS 1507 mısır çeşidinin ifade ettiği Bt toksin, MON 810 tarafından üretilen Cry1Ab'den farklı ve böcekler için daha toksiktir. Ayrıca sağlık üzerinde olumsuz etkileri olabileceği değerlendirilen glifosinata karşı da tolerant sağlamaktadır. İnsan sağlığını da ilgilendiren birçok belirsizlik ve risk olduğunu gösteren Testbiotech raporu da EFSA tarafından dikkate alınmamış ve AB Komisyonu tarafından üretimine izin verilmiştir (Christoph 2010).

### **GD NK603**

GD Roundup Ready NK603 Avrupa Birliği tarafından 2014 yılına kadar gıda ve yem katkısı üretmek üzere izin verilen ESPS enzimi değiştirilerek glifosat herbisitine tolerant hale getirilmiş mısır çeşididir. GD NK603 mısır çeşidi danelerinde 10-14 µg/g gibi çok düşük miktarda CP4 EPSPS proteini bulunmaktadır. EPSPS enzimi zaten bütün bitkilerde vardır, dolayısıyla CP4 EPSPS de onun kadar güvenli kabul edilmektedir. Harrison ve ark (1996) saf EPSP proteinini gavaj yolu ile uyguladıkları farelerde 572 mg/kg gibi yüksek dozlarda bile herhangi bir toksik etki saptamamışlardır (Harrison ve ark 1996, Heck ve ark 2005). EFSA panelinde yapılan değerlendirme sonuçlarına göre de CP4 EPSPS proteininin güvenli olmadığına ilişkin bir veri bulunamamıştır (EFSA 2010).

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



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

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

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

Domingo ve Bordonaba'nın (2011) derlediği yayında GD ticari 3 ayrı mısırla (NK603, MON810 ve MON863) beslenen sıçanlarda, kan ve organ parametrelerine bakılmıştır. Üç farklı GD mısır yemi tüketilmesine bağlı olarak değişkenlik göstermekle birlikte, cinsiyet ve sıklıkla da dozla ilişkili yeni yan etkiler gözlenmiştir. Olumsuz etkiler sıklıkla detoksifikasyon organları karaciğer ve böbrekle ilişkilidir. Ek olarak kalp, adrenal bezler, dalak ve hematopietik sistemde de etkiler gözlenmiştir. Bu verilerin, her bir GD mısırdaki olan özgül pestisitlere bağlı olduğu, hepato-renal toksisite bulgularını aydınlattığı sonucuna varılmıştır. Ayrıca, genetik modifikasyonun doğrudan ya da dolaylı istenmeyen metabolik sonuçları gözden ırak tutulamamaktadır. Günümüze kadar, bu çalışma bilimsel olarak irdelenmemiştir. GD diyetlerin istatistiksel olarak anlamlı etkileri veya pestisit kalıntıları içeren GD ürünler -hepsinde olmamakla birlikte- daha önce de kimi çalışmalarda görülmüştür. Her olgu için ayrı yaklaşım ve toksikolojik çalışmalar çok sınırlıdır. Risk öngörüsünün, yalnızca her 2 cinsiyetten 40'ar sıçanda 90 günlük diyetle yapılmaya çalışıldığını görmek inanılır gibi değildir. Üstelik bu çalışmadan elde edilen sonuçlar istatistiksel anlamlılık sınırındadır ve daha uzun süreli bağımsız çalışmalarla yinelenmemiştir.

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

## Alerjenite Değerlendirmesi

### GD DAS1507

Codex Alimentarius Commission mevzuatına göre (2003) yeni proteinlere IgE bağlanması incelenmiş ve genetik olarak değiştirilmiş olan DAS1507 mısır çeşidinin ürettiği yeni protein düzeyinin alerjik etkiye neden olacak kadar IgE bağlantısı gerçekleştirmeyeceği belirtilmiştir (Talor ve Goodman 2007). GD DAS1507 genetiği değiştirilmiş mısır çeşidinin sentezlediği Cry1F proteini ısıya dayanıksız ve hızlı hidrolize olmaktadır. Ayrıca bu protein glikozillenmediği için alerji kaynağı olmadığı gibi, insan serumu ile yapılan alerji testinde de alerjen olmadığı belirlenmiştir (Cockburn 2002, Ladics ve ark 2006).

### GD NK603

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

**Sonuç olarak;** Bilimsel Komite, GD DAS1507xNK603 melez mısır çeşidinde aktarılan genlerde ve üretilen yeni proteinlerde anababaya göre farklılık olmadığından, toksikolojik ve alerjenite yönünden genetik olarak değiştirilmemiş eşdeğeriyle benzer olduğu sonucuna varmıştır.

## Çevresel Risk Değerlendirmesi

### Genetik Değişiklikten Kaynaklanabilecek Yayılma Potansiyeli

Gen kaçışının potansiyel kaynakları tohum ve polen olarak bilinmektedir. Mısır tohumlarının hayvanlar aracılığıyla taşınması, tohum yapısı bakımından elverişsiz olup, tohumların doğaya kaçışının ancak yem işleme ve nakliye süreçleri sırasında gerçekleşebileceği düşünülmektedir (Nishizawa ve ark 2009).

GD DAS1507xNK603 melez mısır eşidi GD DAS1507 ve NK603 mısır çeşitlerinin aprazlamasıyla geliştirilmiş olup F1 melez çeşitte farklı bir genetik değişiklik bulunmamaktadır. DAS1507xNK603 F1 melezi DAS1507 ve NK603'n özeliklerini taşımaktadır (EC 2003). Tarla denemelerinde, GD DAS1507 ve NK 603 mısır çeşitlerinin, kaynağı olan genetik olarak değiştirilmemiş mısır çeşidi ile hayatta kalma, üreme ve yayılma özellikleri bakımından, Lepidoptera takımındaki böcek türlerine dayanıklılık, glifosinat ve glifosat herbisiti uygulaması dışında, herhangi bir fark

göstermediği bulunmuştur (EFSA 2003, 2005, CERA 2009, Canadian Food Inspection Agency, 2002). Ayrıca, genetik olarak değiştirilmiş DAS1507 mısır çeşidinde, istilacı özelliğe neden olacak herhangi bir genetik modifikasyona dair kanıt bulunmamıştır. GD DAS1507xNK603 mısır çeşidi morfolojik ve büyüme özellikleri bakımından kendi anaç hatlarından ve genetik olarak değiştirilmemiş mısıra göre önemli bir fark tespit edilmemiştir (CERA 2009).

**Sonuç olarak;** Bilimsel Komite, DAS1507xNK603 mısır çeşidinin, çevreye yayılma potansiyeli yönünden genetik olarak değiştirilmemiş eşdeğerleriyle benzer olduğu sonucuna varmıştır.

- **Bitkiden bitkiye gen kaçıışı**

Mısır yabancı döllen bir bitki olup, pollenler rüzgârla çevreye taşınabilmektedir (Treu ve Emberlin 2000). Ancak yem amaçlı olarak DAS1507xNK603 çeşidinin ülkemize girişi nedeniyle bitkiden bitkiye gen kaçıışının kaza ile çevreye yayılması ile mümkün olabilir (Nishizawa ve ark 2009).

Kültürü yapılan mısır çeşitlerinin ülkemizde yaygın olarak üretilmesi nedeniyle DAS1507xNK603 mısır çeşidinden yabancı türlere ve kültür çeşitlerine gen kaçıışı olasılığının bulunacağını göstermektedir (Lu ve Yang 2009, Healty Canada Office of Food Biotechnology 2001, Canadian Food Inspection Agency 2002, ANZFA 2002).

Bununla beraber mısır tohumlarının ender olarak dormansi göstermesi ve sadece uygun koşullarda izleyen yılda çimlenmesi, tohumların yenmesi, çürümesi, kış zararı ve tarım uygulamaları nedeniyle fideler agro-ekosistemde canlılığını sürdürememektedir. Bu nedenle, GD DAS1507xNK603 mısır çeşidinin, glifosinat ve glifosat kullanılan araziler dışında, diğer çeşitlere kıyasla daha uyumlu olabileceği düşünülmemektedir (EC 2003).

### **Bitkiden bakteriye gen kaçıışı**

Genetik olarak değiştirilmiş DAS1507xNK603 mısır çeşidinden üretilen besin ve yemlerde bulunan trans-genlerin, insan ve hayvanların sindirim sistemlerinde ve doğada bulunan mikroorganizmalarla karşılaşma riski bulunmaktadır. Bitki DNA'sı memelilerin sindirim siteminde büyük oranda ve hızla parçalanmasına karşın, kalın bağırsakta DNA parçalarına rastlanabilmektedir (Eede ve ark 2004). Öte yandan bu gen parçalarının prokaryot genomuyla birleşme olasılığının doğada rastlanılandan daha fazla olmadığı belirtilmektedir (Nielsen 1998, Keese 2008, EFSA 2005).

Ayrıca, GD DAS1507xNK603 mısır çeşidinde antibiyotiğe direnç geninin bulunmaması ve aktarılan *cry1F*, *cp4 epsps* ile *pat* genlerinin ökaryotik hücrelerden prokaryotlara geçişi mümkün gözükmemektedir (Eede ve ark, 2004, EFSA 2005, FSANZ 2003).

**Sonuç olarak;** GD DAS1507xNK603 mısır çeşidi ülkemizde yem amaçlı kullanılacağı ve üretimi yapılmayacağından, kazayla oluşabilecek yayılmalar sonucu gelişen bitkilerden, kültürü yapılan mısır çeşitlerine gen kaçıışının son derece düşük olacağı düşünülmektedir. Ayrıca sindirim sisteminde ve doğada bulunan prokaryotlara da gen geçişinin yok denecek kadar az olduğu sonucuna varılmıştır.

## GENEL SONUÇ ve ÖNERİLER

Bilimsel Komite, **GD DAS1507xNK603** mısır çeşidinin yem olarak kullanım amacıyla ithal edilmesinin risklerini değerlendirmiştir. GD DAS 1507xNK603 mısır çeşidine biyoteknolojik yöntemlerle aktarılan genlerin yapısı, DNA dizilimi, promotör ve terminatör bölgeleri, ekstra DNA dizileri ve gen aktarım yöntemi ayrıntılı olarak incelenmiştir. Bu çeşitle ilgili başvuru dosyasında yer alan dokümanlar, risk değerlendirilmesi yapan çeşitli kuruluşların görüşleri (EFSA, WHO, FAO, FDA, OECD) ve bilimsel araştırmaların sonuçları (alerjik ve toksik etki analizleri, genetik modifikasyonun stabilitesi, morfolojik ve agronomik özellikler, hedef dışı organizmalara etkisi vb.) ile farklı ülkelerde üretim ve tüketim durumları göz önünde bulundurulmuştur. Yine bu GD çeşitle yapılan hayvan besleme çalışmaları da incelenerek yem olarak kullanımı sonucu ortaya çıkabilecek riskler değerlendirilmiştir. Ek olarak bu mısır çeşidinin ülkemizde kazayla yayılması durumunda oluşabilecek tarımsal ve çevresel riskler de göz önünde bulundurulmuştur.

Bilimsel komite, Lepidoptera takımındaki mısır kurtlarına dayanıklılığı sağlayan *B. thuringiensis* subsp. *aizawai* kökenli **cry1F** ve **glifosinat amonyum** herbisitine toleransı sağlayan *S. viridochromogenes* orijinli **pat** (phosphinothricin-N-acetyltransferase) ile *Agrobacterium tumefaciens*'den izole edilen ve **glifosat** herbisitine toleransı sağlayan **cp4 epsps** genleri ile proteinlerini içeren **GD DAS1507xNK603** mısır çeşidinin 'yem olarak' kullanılmasının uygun olabileceği kanısına varmıştır.

Karşılaştırmalı analizler ile **GD DAS 1507xNK603** mısır çeşidinin, geleneksel mısır çeşitleri kadar güvenli olduğu, alerjenite bakımından bir değişikliğe uğramadığı ve besin içeriği ile tarımsal özellikleri açısından da bir fark bulunmadığı saptanmıştır. **GD DAS 1507xNK603** mısır çeşidinin kazayla çevreye yayılması durumunda, geleneksel çeşitlerden farklı bir çevresel etkinin oluşması olasılığının da çok düşük olduğu sonucuna varılmıştır.

Erişilebilen bu bilgiler ışığında, Bilimsel Risk Değerlendirme Komitesi, **GD DAS1507xNK603** mısır danesinin 'yem olarak' kullanılmasının, insan, hayvan ve çevre açısından istenmeyen etkilerinin, genetiği değiştirilmemiş eşdeğer çeşitten farklı olmayabileceği kanısına varmıştır.

### Risk Yönetimi

Özellikle bitki dışı organizmalardan klonlanarak GD bitkilerinin geliştirilmesinde kullanılan gen/genlerin, gerek GD bitkilerinin gerekse bunları tüketen hayvanların genomlarındaki olası olumsuz etkilerinin kısa sürede tam olarak ortaya çıkmayacağı göz önünde bulundurulmalıdır. Bu görüşü doğrulayan USDA, FDA, EPA, CDC gibi ABD devlet kurumları, biyoteknoloji şirketlerini kapsamlı saha ve güvenlik araştırmalarına yönlendiren mevzuat düzenlemeleri yapmaktadırlar. Bu çerçevede oluşturulan kararlara göre; 1) Tarımsal ürünler ve hayvan yemleri geliştirmek için biyoteknolojik yöntemlerin kullanımı gerekli olabilmektedir, 2) Biyoteknolojik yöntemlerle üretilen yemler, kesin bilimsel temellere dayanmak zorundadır, 3) Et, süt ve yumurtanın güvenliği, bilimsel kanıta dayalı risk öngörüsü süreçleri ile uygun biçimde kamu kurumları ve araştırmacıları tarafından sağlanmalıdır (Heinemann, 2009).

Risk yönetiminin planlanması ve bu planının uygulanması Bilimsel Risk Değerlendirme Komitesi'nin sorumluluğu dışındadır. Ancak Komite, İthalatçı firma tarafından sunulan risk yönetim planını, bilimsel içerik yönünden değerlendirir. **GD DAS 1507xNK603** mısır çeşidine ait tohumların taşınma ve işlenmesi sırasında kazayla çevreye yayılması sonucu olası çevresel riskler ortaya çıkabilir. Bu durumda 5977 sayılı Biyogüvenlik Kanunu ve ilgili yönetmelikler uyarınca gerekli önlemler alınmalıdır. İthalatçı firma tarafından sunulması gereken risk yönetim planı;

1. **GD DAS1507xNK603** mısır çeşidinin çevre, hayvan ve insan sağlığı üzerinde olumsuz etkileri dikkate alınarak, merkezi sistem yolu ile ithalatçı firma tarafından ürünü işleyenler ve kullanıcılar bilgilendirilmelidir.
2. Ürünün dağıtımını yapan ve kullanan kişiler tarafından kaydedilen bilgilerin paylaşılması için ulusal düzeyde bir eşgüdüm ve bilgi sistem ağı (**Europa Bio benzeri**) kurulmalıdır.
3. Elde gözetim sistemi ağı varsa, bu amaçla kullanılabilir. GD ürünlerin kaza ile ve/veya sabotajla büyük ölçekte çevreye yayılması durumlarında alınacak hızlı ve kapsamlı önlemlerin **Ulusal Afet Planlarıyla** ilişkilendirilerek değerlendirilmesi ve planlanması uygun olacaktır.
4. İthalatçı firma, yıllık olarak genel bir gözetim raporunu ve ithal izin süresinin sonunda genel bir değerlendirme raporunu Bakanlığa sunacaktır. Doğrulan bir olumsuz etki durumunda ithalatçı firma, ilgili Bakanlık birimlerini bilgilendirmek zorundadır.

## KAYNAKLAR

Andersson HC, Bartsch D, Buhk H-J, Davies H, De Loose M, Gasson M, Hendriksen NB, Heritage J, Kärenlampi S, Kryspin-Sørensen I, Kuiper H, Nuti M, O'Gara F, Puigdomenech P, Sakellaris G, Schiemann J, Seinen W, Sessitsch A, Sweet J, van Elsas JD, Wal J-M, 2000. Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on an application (reference EFSA-GMO-NL-2004-02) for the placing on the market of insect-tolerant genetically modified maize 1507, for food use, under Regulation (EC) No 1829/2003 from Pioneer Hi-Bred International/Mycogen Seeds (Question no EFSA-Q-2004-087). - The EFSA Journal, 182: 1-22.

ANZFA, 2002. Final risk assessment report: glyphosate-tolerant corn line NK603 Australia New Zealand Food Authority

Biopesticides Registration Action Document. 2010. Cry1Ab and Cry1F Bt Plant-Incorporated Protectants. U.S. Environmental Protection Agency Office of Pesticide Programs Biopesticides and Pollution Prevention Division. September 2010.

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

Chambers JA, Jelen A, Gilbert MP, Jany CS, Johnson TB, Gawron-Burke C, 1991. Isolation and characterization of a novel insecticidal crystal protein gene from *Bacillus thuringiensis* sbsp. *aizawai*. J. Bacteriol, 173(13): 3966-3976.

Canadian Food Inspection Agency, 2002. Determination of the Safety of Dow AgroSciences Canada Inc. and Pioneer Hi-Bred International's Insect Resistant and Glufosinate - Ammonium Tolerant Corn (*Zea mays* L.) Line 1507. Decision DocumentDD2002-41.

<http://www.inspection.gc.ca/english/plaveg/bio/dd/dd0241e.shtml>

Center for Environmental Risk Assessment, 2011. A Review of the Environmental Safety of the PAT Protein. ILSI Research Foundation. 1156 Fifteenth Street N.W., Washington D.C. 20005-1743 USA.

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

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

EC, 2003. Summary of the application for the authorisation of genetically modified 1507xNK603 maize and derived food and Feed in accordance with regulation.

Eede G, van den Aarts H, Buhk HJ, Corthier G, Flint HJ, Hammes W, Jacobsen B, Midtvedt T, Vossen J, van der Wrijt A, von Wackernagel W, Wilcks A, 2004. The relevance of gene transfer to safety of food and feed derived from genetically modified (GM) plants. Food and Chemical Toxicology, 42: 1127-1156.

EFSA, 2003. Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the safety of foods and food ingredients derived from herbicide-tolerant genetically modified maize NK603, for which a request for placing on the market was submitted under Article 4 of the Novel Food Regulation (EC) No 258/97 by Monsanto. *The EFSA Journal*, 9: 1-14.

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

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

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

Erickson GE, Robins ND, Simon JJ, Berger LL, Klopfenstein TJ, Stanisiewski EP, Hartnell GF, 2003. Effect of feeding glyphosate-tolerant (Roundup –Ready events

GA21 or nk603) corn compared with reference hybrids on feedlot steer performance and carcass characteristics. *J. Anim. Sci.*, 81, 2600-2608.

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

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

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

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

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

Healty Canada, Office of Food Biotechnology 2001, Novel food Information-Food Biotechnology, Roundup Ready corn line 603

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

Hin CJA, 2001. Rapport Landbouwkundige risico's van uitkruising van GGO-gewassen Centrum voor Landbouw en Milieu (CLM).

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

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

Japanese Biosafety Clearing House (JBCH), 2002. Outline of the biological diversity risk assessment report: Type 1 use approval for cotton DAS-01507-1. Japan Biosafety Clearing House (JBCH). Tokyo, Japan.

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

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

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

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

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

MacKenzie SA, Lamb I, Schmidt J, Deege L, Morrissey MJ, Harper M, Layton RJ, Prochaska LM, Sanders C, Locke M, Mattsson JL, Fuentes A, Delaney B, 2007. Thirteen week feeding study with transgenic maize grain containing event DAS-Oslash 15 Oslash 7-1 in Sprague-Dawley rats. *Food and Chem. Toxicol*, 45: 512-520.

Nielsen KM, Bones AM, Smalla K, Elsas JD van, 1998. Horizontal gene transfer from transgenic plants to terrestrial bacteria- a rare event? *FEMS Microbiology Reviews*, 22: 79-103.

Nishizawa T, Nakajima N, Aono M, Tamaoki M, Kuba A, Saji H, 2009. Monitoring the occurrence of genetically modified oilseed rape growing along a Japanese roadside: 3-year observations. *Environ. Biosafety Res*, 8: 33-44.

OECD, 1999. Consensus document on general information concerning the genes and their enzymes that confer tolerance to phosphinothricin herbicide. Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology No. 11. Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), Paris.

Özcan S, 2009. Modern Dünyanın Vazgeçilmez Bitkisi Mısır: Genetiği Değiştirilmiş (Transgenik) Mısırın Tarımsal Üretimine Katkısı. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 2: 1-34.

Özcan S, 2011. Genetiği değiştirilmiş bitkiler ve sosyo-ekonomik etkileri. Uluslararası Katılımlı 1. Ali Numan Kırac Tarım Kongresi ve Fuarı 27-30 Nisan 2011, Eskişehir. Cilt 1: 75-82.

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

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

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



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

Stein HH, Sauber TE, Rice DW, Hinds MA, Smith BL, Dana G, Peters DN, Hunst P, 2009. Growth Performance and Carcass Composition of Pigs Fed Corn Grain from DAS-Ø15Ø7-1 (Herculex I) Hybrids. *The Professional Animal Scientist* 25(6): 689-694.

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

Treu R, Emberlin J, 2000. Pollen dispersal in the crops Maize (*Zea mays*), Oil seed rape(*Brassica napus ssp oleifera*), Potatoes (*Solanum tuberosum*), Sugarbeet (*Beta vulgaris ssp. vulgaris*) and Wheat (*Triticum aestivum*).

William PR, Ravinder SS, Paul DP, Margaret AN, Matthew LB, James DA, 2002. Comparison of the Nutritional Profile of Glyphosate-Tolerant Corn Event NK603 with That of Conventional Corn (*Zea mays* L.) *J. Agric. Food Chem.* 50, 7235-7243

Zabik JM, Wolt JD, Borgmeier DJ, Storer N, 2003. Public interest document for maize- optimized Cry1F-protected corn event TC6275. GH-C 5659. MRID 460193-12.