



YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ FAKÜLTESİ
BESLENME VE DİYETETİK BÖLÜMÜ

BALDA GENETİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ ORGANİZMA
VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

MASTER TEZİ

Meral AYDENİZ

ADVISOR

Assist.Prof.Dr.İskender KARALTI

İSTANBUL, 2015

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

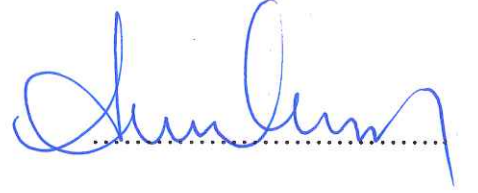
Yükseklisans / ~~Doktora~~ öğrencisi Meral AYDENİZ'in çalışması jürimiz tarafından Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı Yüksek Lisans / ~~Doktora~~ Tezi olarak uygun görülmüştür.

İMZA

Başkan : Yrd.Doç.Dr. İskender KARALTI
Üniversite : Yeditepe Üniversitesi

.....


Üye : Yrd.Doç.Dr. Arzu DURUKAN
Üniversite : Yeditepe Üniversitesi

.....


Üye : Yrd. Doç.Dr.N. Cenk SESAL
Üniversite : Marmara Üniversitesi

.....


Üye :
Üniversite :

.....

Üye :
Üniversite :

.....

ONAY

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun 12/02/2015 tarih ve 06-3 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

.....

Prof. Dr. Bayram YILMAZ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Çalışmama başlarken araştırma konusunun belirlenmesi s¼recinden başlayarak ilgisi, önerisi, bilgisi, yardımı ve çalışmanın her aşamasında sabırla yanımda olduğu için danışman hocam Sayın Yrd.Doç.Dr. İskender KARALTI'ya başta; bölüm başkanımız Sayın Prof. Dr. B.Serdar ÖZTEZCAN'a, çalışmam boyunca destek ve katkılarını eksik etmeyen sevgili aileme, ayrıca yardımı ve emeği geçen arkadaşlarıma sonsuz teőekkürler.

Meral AYDENİZ



ÖZET

Gen, Yunanca kökenli bir kelime olup doğum, başlangıç anlamına gelen “genos”tan gelmektedir. Genler; canlıların kuşaktan kuşağa geçen özelliklerini (boy, renk, hastalıklara dayanıklılık, yüksek verim gibi) şifreleyen birimler olup yaşamı belirleyen genler DNA sarmalı içinde yer almaktadır. Bir canlı türüne başka bir canlı türünden gen aktarılması veya mevcut genetik yapıya müdahale edilmesi yoluyla yeni genetik özellikler kazandırılmasını sağlayan ve gen teknolojisi ile doğal süreçler ile edinilmesi mümkün olmayan yeni özellikler kazandırılmış GDO ürünlerin insan sağlığı ve çevre üzerindeki olası olumsuz etkileri uzunca süredir tartışılmaktadır. 1996’da piyasaya sürülmesinden bu yana, üretimi ve pazara sunulması konusunda çeşitli tartışmalar devam etmektedir Dünya çapında artan ekim alanları genetiği değiştirilmiş (GD) ürünlerin gelecekte yaygın kullanılacağını göstermekte ve bu durum ise oldukça ilgi çekmektedir. Genetiği değiştirilmiş organizmalar tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de oldukça güncel ve yeni bir konudur. Konunun sağlık hizmetini sürdüren sağlık profesyonellerince bilinmesi büyük önem taşımaktadır.

Materyal: Çalışmamızda 20 adet paketli ve 20 adet açık bal örneğinde GDO olup olmadığı araştırılmıştır. Örneklerden kapalı olanlar farklı markalara ait olup süpermarketlerden temin edilirken açık olan örnekler ise numune olarak toplanmıştır. Örnekler steril kap içerisinde toplanıp kısa sürede analiz için laboratuara ulaştırılmıştır.

Metod: . Örneklerden 1’er yemek kaşığı alınarak DNA izolasyonu yapılmıştır. İzole edilen DNA’lar Roche 480 II Real time PCR cihazı ile çalışılmış, testin performansını değerlendirmek için kontrol testi de yapılmıştır. İncelenen bal örneklerinde GDO varlığına rastlanmamıştır.

Amaç: Bu çalışma ülkemizde üretilen ballarda GDO varlığının araştırılması eğer saptanırsa düzeyinin belirlenmesi amacını taşımaktadır.

Anahtar kelimeler: Genetiği değiştirilmiş, GDO, Bal

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEŞEKKÜR	i
ÖZET.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
KISALTMALAR	vi
ŞEKİL LİSTESİ.....	vii
TABLO LİSTESİ.....	viii

BİRİNCİ BÖLÜM – GİRİŞ1

İKİNCİ BÖLÜM - GENEL BİLGİLER.....2

2.1 Genetiği Değiştirilmiş Organizma Nedir?	2
2.2 Tarihçesi.....	2
2.3 Gdo'ların Kullanım Alanları	3
2.3.1 Biyoteknolojinin Bitkilerde Kullanımı.....	4
2.3.2 Biyoteknolojinin Hayvansal Üretimde Kullanımı.....	4
2.4 Dünya'daki durum	5
2.5 Türkiye'deki Durum.....	5
2.6 Genetiği Değiştirilmiş Gıdaların İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri	6
2.6.1 Olumlu Etkiler.....	6
2.6.1.1 Gıdaların Besin İçeriklerinin Artırılması.....	6
2.6.1.2 Gıda Veriminde Artış ve Yeterli Beslenme.....	7
2.6.1.3 Yenebilir Aşı Üretimi	7
2.6.1.4 İnsan Hastalıklarının Tedavisi	7
2.6.2 Olumsuz Etkiler.....	8
2.6.2.1 Antibiyotiklere Direnç Gösterme	8

2.6.2.2 Alerjik Etkiler	9
2.6.2.3 Toksik Etkiler	9
2.6.2.4 Kanserojen Etkiler	10
2.7 Gdo'ların Sosyo Ekonomik Boyutu	10
2.8 Gen Aktarım Yöntemleri.....	11
2.8.1 Agrobacterium Aracılığıyla Gen Aktarımı.....	11
2.8.2 Doğrudan Gen Aktarım Yöntemleri.....	12
2.8.2.1 Elektroporasyon ve PEG Aracılığıyla Gen Aktarımı	12
2.8.2.2 Biyolistik	12
2.8.2.3 Mikroenjeksiyon	12
2.8.2.4 Sonikasyon.....	13
2.8.2.5 Desikasyon.....	13
2.8.2.6 Lazer Mikro Işımlarıyla Aktarım.....	13
2.8.2.7 Fiberler Aracılığıyla Aktarım	13
2.8.2.8 Polen Tüpü Aracılığıyla Aktarım	13
2.8.2.9 Lipozomlarla Gen Transferi	13
2.9 Dünya Ülkeleri Açısından GDO'ların Hukuki Boyutu.....	13
2.10 Avrupa Birliği'nde GDO'ların Hukuki Boyutu	14
2.11 Türkiye'de GDO'ların Durumu ve Yasal Düzenlemeler	15

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM - MATERYAL VE METOD.....18

3.1 Materyal	18
3.2 Metod	18
3.2.1 Nükleik asit izolasyonu	18
3.2.2. PCR	20
3.2.2.1 Nükleik Asit Çoğaltma Yöntemleri	20
3.2.2.2 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	21
3.2.2.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu Çeşitleri	21
3.2.2.4. Real Time Pcr	22
3.2.2.5. Gdo PCR.....	23

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM - VE SONUÇLAR.....	27
4.1 Araştırma sonuçları	26
4.2 Tartışma.....	34
BEŞİNCİ BÖLÜM - SONUÇ.....	38
KAYNAKLAR	39



KISALTMALAR

EFSA : AB Komisyonu ve Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi

rSBH : Rekombinant Sığır Büyüme Hormunu

DSÖ : Dünya Sağlık Örgütü

FAO : Gıda ve Tarım Örgütü

EPA : Çevre Koruma Ajansı

AMA : Amerika Birleşik Devletleri Tıp Birliği

FDA : Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi

GDO : Genetiği Değiştirilmiş Organizma

GMO : Genetiği Değiştirilmiş Organizma

PCR : Polimeraz Zincir Reaksiyonu

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 3.1 Polimeraz zincir reaksiyonunda şematik olarak bir siklusun aşamaları.	19
Şekil 3.2 Çalışma esnasında görüntülenen real time PCR görüntüsü.....	21
Şekil 3.3 Roche The LightCycler® 480 System Machine.....	22
Şekil 3.4 Roche The LightCycler® 480 System Screen.....	24
Şekil 3.5 Roche The LightCycler® 480 System Screen.....	26
Şekil 4.1 35 S için kalite kontrol sonuçları.....	27
Şekil 4.2 NOS için kalite kontrol sonuçları.....	28
Şekil 4.3 FMV için kalite kontrol sonuçları.....	28
Şekil 4.4 İnternal kontrol için kalite kontrol sonuçları.....	29
Şekil 4.5 35S Promotor dizi tarama sonuçları.....	30
Şekil 4.6 NOS terminatör dizi tarama sonuçları.....	30
Şekil 4.7 FMV promotor dizi tarama sonuçları.....	31
Şekil 4.8 Bal ürünleri IC sonuçları.....	31

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 3.1 PCR Mix Preparation	25
Tablo 3.2 PCR Conditions	26
Tablo 4.1 Interpretation of results.....	27
Table 4.2 The result of unpacked honey samples GMO.....	32
Table 4.3 The result of packed honey samples GMO.....	33



BİRİNCİ BÖLÜM

GİRİŞ

Dünya sağlık örgütüne göre dünya üzerindeki nüfusun artmasıyla birlikte ihtiyaç duyulan gıda üretimi için tarımsal ilaç kullanımının azalması verimliliğin artırılması, uygun olmayan iklim koşullarında bile ürün alınabilmesi besin değerinin ve raf ömrünün artırılması gündeme gelmiştir. Bunun ise üretim biçiminin değiştirilmesi ile mümkün olabileceği ve böylece dünyadaki açlığa çare bulunabileceği savunulmaktadır (7).

Günümüzde GDO' ların yararları yanında zararları ya da riskleri de tartışılmaya başlanmıştır. Nüfusun hızlı artışı, tarıma elverişli alanların azalması, erozyonlar, gıda israfı, üretim teknolojisinin henüz istenilen düzeye çıkarılamaması, sulamanın yetersiz olması, denizlerin kirlenmesi gibi birçok çeşitli nedenlerle yakın bir gelecekte açlık sorununun daha da tehlikeli bir boyuta ulaşacağı düşünülmektedir (1).

İKİNCİ BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

2.1 Genetiği Değiştirilmiş Organizma Nedir?

Genetiği değiştirilmiş organizmalar (GDO), biyoteknolojik yöntemlerle canlıların sahip olduğu gen dizilimleriyle oynanarak, mevcut özelliklerinin değiştirilmesi veya canlılara yeni özellikler kazandırılması ile elde edilen organizmalara verilen isimdir. Son yıllarda dünyanın en çok ilgilendiği konuların başında biyoteknoloji ve biyoteknolojik yöntemlerle elde edilen genetik olarak değiştirilmiş organizmaların (GDO) kullanımı gelmektedir (6).

Genetiği değiştirilmiş organizmalar, Genetik yapısı değiştirilmiş organizmalar, Değiştirilmiş Canlı Organizmalar (DCLMO), Genetik Olarak Modifiye Edilmiş Mahsüller (GM) gibi değişik isimlerle de isimlendirilmektedir (2).

2.2 Tarihçesi

Karl Ereky tarafından ilk olarak 1919 yılında kullanılmış olan “biyoteknoloji” teriminin o zamanki tanımı, anlamı ve kapsamı günümüze kadar gelişen modern tekniklerin bu alana uygulanması sonucu önemli ölçüde değişikliklere uğramıştır (1).Biyoteknoloji son 10-15 yıl içinde hızla gelişen ve birçok yarar sağlamış ve 1982 yılında yayınlanan OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) raporunda; “temel bilimlerin ve mühendislik ilkelerinin, ham maddelerin biyolojik araçlar yardımı ile ürünlere dönüştürüldüğü süreçlere uygulanan teknoloji” olarak tanımlanmıştır. (1).

En ses getiren meyvesi olan ve son yılların en gözde tartışmalarından biri haline gelen genetik olarak değiştirilmiş organizmalar (GDO), günümüzde dünya gündeminin baş maddesi olmayı halen sürdürmektedir (1). Biyoteknolojinin tarihçesi incelendiği zaman; tahılların evcilleştirilmesi (M.Ö. 10000), hayvanların evcilleştirilmesi (M.Ö. 8000-9000), bira fermantasyonu (M.Ö. 6000), mayalı ekmek yapımı (M.Ö. 4000), aşuların üretimi (~1880), antibiyotiklerin üretimi (~1940),yüksek verimli tahıl üretimi

yeşil Devrim” (~1960) ve genetik olarak değiştirilmiş bitkilerin üretimi- “Biyoteknoloji Devrimi” (~1990) olarak sıralanmaktadır (1).

Başlıcaları; mısır, patates, domates, pirinç, soya, buğday, kabak, bal kabağı, ayçiçeği, yer fıstığı, bazı balık türleri, kolza, kasava ve papaya olmak üzere dünyada pek çok GDO’lu ürün bulunmaktadır. Bunların dışında, muz, ahududu, çilek, kiraz, ananas, biber, kavun, karpuz ve kanola gibi ürünler üzerinde çalışmalar halen devam etmektedir (1). GDO’ lar ile ilgili Dünya halk sağlığı problemlerini çözmek amacıyla besin miktarının artırılması ve içeriğinin zenginleştirilmesi yönünde çalışmalar yapılmaktadır (1).

2.3 Gdo’ların Kullanım Alanları

Dünyada okul öncesi dönemdeki üç milyon kadar çocuğun A vitamini eksikliğinden kaynaklanan görme bozukluğunun bulunduğu, her yıl 250 000 ile 500 000 kadarının kör olduğu ve bunların üçte ikisinin de izleyen birkaç aylık süreçte öldükleri belirlenmiştir. Yetersizliğinden dolayı 14 milyon çocuk tedavisi mümkün olmayan göz hasarıyla karşı karşıyadır. Yine dünya nüfusunun % 30’unda demir eksikliği görülmektedir. Bu durum öğrenme kabiliyetini azaltma, enfeksiyon artışı gibi sorunlar oluşturur (2). Besin içeriğini zenginleştirmeye yönelik biyoteknolojik çalışmalar ile vitamin A yönünden zengin pirinç (golden rice) üretimi gerçekleştirilmiştir (1). Farklı bir pirinç türünde de demir oranı iki kat artırılmıştır (2). Bu şekilde, pirincin temel tüketim maddesi olduğu bölgelerde A vitamini eksikliğinin önlenmesi amaçlanmıştır (1).

Gıda ürünlerindeki antioksidan düzeyi artırılarak, toplumda var olan belirli kanser ve diğer kronik hastalıkların oranının azalması hedeflenmiştir. Önemli bir antioksidan olan likopen, genetiği değiştirilmiş domates, domates ürünleri ve biberde bol miktarda bulunmaktadır. Genetiği değiştirilmiş soya ve kolza çeşitlerinde doymamış yağ oranı artırılarak vücuttaki kolesterol oranı kontrol altına alınmıştır.. Çünkü doymuş yağ oranı yüksek olan yağlar insanlarda kolesterolün yüksek olmasına sebep olmaktadır. Sağlıklı bir beslenme açısından doymuş yağ oranı düşük ve doymamış yağ oranı daha yüksek olan yağlar tercih edilmelidir. Ayrıca yüksek nişasta oranına sahip patates çeşitleri, gluteni ve ekmeklik kalitesi yükseltilecek buğday çeşitleri, aminoasit oranı

Ayrıca yüksek nişasta oranına sahip patates çeşitleri, gluteni ve ekmeklik kalitesi yükseltilerek buğday çeşitleri, aminoasit oranı artırılmış tahıl çeşitleri üretilmektedir (12). Yapılan çalışmalardan bir diğeri de transgenik yöntemlerle balıkların daha fazla büyüme hormonu salgılaması ve böylece et veriminin artmasıdır

2.3.1 Biyoteknolojinin Bitkilerde Kullanımı

Transgenik bitkiler genetik yapı olarak değiştirilmiş bitkiler olarak tanımlanmakta olup, normal koşullarda oluşması beklenmeyen gen kombinasyonlarına sahiptirler. GDO'lar bu nedenle virus, bakteri, hayvan ve bitkilerden transfer edilen genleri içerebilirler. Zararlılarla mücadele , ürünün tadını ve görünümünü değiştirmek, besin değerini arttırmak, taşımaya ve depolamaya uygunluğu arttırmak gibi amaçlarla transgenik bitkilerde gen transferi yapılmaktadır (8). Örneğin, kutuplarda yaşayan bir tür balıktan izole edilen ve donmayı engelleyen antifreeze geni domates ve çilek gibi bitkilere aktarılıp, soğuğa karşı dirençli genetiği değiştirilmiş (GD) domates ve çilekler geliştirilmiştir (6). Bir başka örnek ise mısır ve diğer ürünlerde Bacillus thuringiensis (B.t) geninin kullanımıdır. B.t.normalde doğada bulunan bir bakteri olup insekt larvaları için öldürücü bir protein üretmektedir. Bu proteini kodlayan gen mısıra aktarılmakta ve mısır insektlere karşı kendi pestisitlerini üretebilmektedir (9,6).

2.3.2 Biyoteknolojinin Hayvansal Üretimde Kullanımı

Hayvansal üretimde biyoteknoloji kullanımı ise, çeşitli hayvan türlerinden büyüme hormonu genlerinin izolasyonu ve karakterizasyonu üzerine yapılan çalışmalar üzerinde yoğunlaşmıştır. Yapılan bir çalışmada “Bovine Somatotropin” (BST) hormonu ineklere enjekte edildiğinde süt ineklerinde süt veriminin artmakta olduğu ve yemin etkin kullanımı ile hızlı bir büyüme gerçekleştiği görülmüştür. Aynı şekilde “Porcine Somatotrapin” kullanımı ile karkas kompozisyonu yağ miktarında azalma ve protein miktarında artma yönünde değişiklik izlenmiştir (10,6). BST kullanımı Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration; FDA) tarafından onaylanmış olup, rekombinant BST uygulanmış ineklerin sütlerinin etiketlenmesi zorunlu hale getirilmiştir.

Bu sütlerin kullanımı ile ilgili olarak; normal sütler ile aralarında hiçbir farklılığın olmadığı ve bir ayırım metodunun

Bu sütlerin kullanımı ile ilgili olarak; normal sütler ile aralarında hiçbir farklılığın olmadığı ve bir ayırım metodunun olmaması nedeniyle etiketlenme zorunluluğunun olamayacağı, BST uygulanmış ineklerde mastitis gelişebildiği ve enfeksiyonun tedavisinde verilen antibiyotiklerin süte geçebileceği konularında kaygılar halen devam etmektedir (11,6).

2.4 Dünya'daki Durum

GDO'ların ve bunlardan elde edilen ürünlerin dünyada gittikçe artarak ilgi çekmesiyle birlikte, 1990'lı yılların başından günümüze kadar geçen sürede, bu ürünlere dayalı tarımsal ekim alanının dünya çapında büyük bir artış göstererek yaklaşık 125 milyon hektara ulaşmıştır (2). GDO'ların ekimi en fazla ABD (%57.7), Arjantin (%19.1) Brezilya (%15), Hindistan (%6.2), Çin (%3.8), Paraguay (%2.6), Güney Afrika (%1.8)'da yapılmaktadır. Dünya'da üretilen GDO'ların büyük bölümünü zirai ilaçlara ve çeşitli tarım zararlılarına karşı geliştirilen dayanıklı soya (%51), mısır (% 31), pamuk (%13) ve kanola (%5) gibi tarım ürünleri oluşturmaktadır (3).

2.5 Türkiye'deki Durum

Türkiye'deki tüketiciler de bugüne kadar GDO'lu ürünler hakkında pek fazla bilgi sahibi değil iken çeşitli örgütler, çiftçiler ve gönüllü kuruluşlar, niversiteler ile yerel ve ulusal basının çeşitli organları aracılığıyla GDO'lu gıdalar üzerine dikkat çekilmeye başlanmıştır. Bu Şekilde lkemizde gerek evre, ekoloji ve sağlık riskleriyle gerekse getireceği olumlu yanlarıyla üreticisi ve tketicisiyle birlikte milyonlarca insanın GDO kavramı ile tanışmasını sağlamışlardır (2).

Türkiye'de biyoteknoloji çalışmaları bir yandan Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı bünyesinde yürütülmekte bir yandan da Orta Doğu Teknik niversitesi bünyesinde devam etmektedir. alışmalar henüz GDO'ların seri üretimine geçilecek kadar ileri düzeyde olmamasıyla birlikte ve Türkiye henüz GDO'larla ilgili bir yasada mevcut değildir. Ancak Cartagena Protokolünü imzalamış olup onun gereklerini uygulamaktadır. Bunların yanında hala yeterli kontrol ve denetimin olmadığı da gözlenmektedir(2).

Bugün için halen GDO'lar hakkındaki mevzuat çalışmalarında büyük bir ilerleme kaydedildiği söylemek pek mümkün değildir. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı tarafından GDO ve ürünleri ile GDO ve ürünlerini içeren gıda ve yem maddeleri hakkında karar verme, işleme, ithalat, ihracat, izleme, tescil, etiketleme, kontrol ve denetim ile ilgili usul ve esasları belirlemek için hazırlanan ve 26.10.2009 tarihli-27388 sayılı Resmi Gazetede yayımlanan “Gıda Ve Yem Amaçlı Genetik Yapısı Değiştirilmiş Organizmalar Ve Ürünlerinin İthalatı, İşlenmesi, İhracatı, Kontrol Ve Denetimine Dair Yönetmelik tartışmalar içerisinde yürürlüğe girmiştir (23).

2.6 Geneteği Değiştirilmiş Gıdaların İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri

2.6.1 Olumlu Etkiler

2.6.1.1 Gıdaların Besin İçeriklerinin Artırılması

Tarımsal biyoteknoloji uygulamalarıyla gıda veriminde ve kalitesinde artış sağlanabilmektedir. Gıda kalitesindeki artış, gıdanın tadı, yapısı, görünüşü ve besin değerindeki artış anlamına gelmektedir. Örneğin domateste kuru madde oranının artırılmasının, soyadaki doymamış yağ asidi oranının artırılmasının sağlık açısından yararlı olduğu kabul edilmektedir. Gıdaların besin değerinin artırılması insan beslenmesi ve sağlığın korunmasında önemli bir uygulamadır. Bilim adamları A vitamini miktarını ya da demir oranı yüksek pirinç türünü üretmeyi başaramışlardır (4).

Gen aktarım teknolojisi yöntemi ile bazı kanserlerin, kalp hastalığı ve körlük gelişiminin sebebi ve zararlı bir kimyasal reaksiyon olan, biyolojik oksidasyonu yavaşlatan veya engelleyen bileşikler olarak bulunan antioksidan vitaminlerin ve minerallerin ürünlerdeki düzeyi artırılmaktadır. Örneğin C vitamini insan beslenmesi açısından önemlidir ve genetik değiştirme teknolojisi ile üretilen çilekte C vitamini düzeyi artırılması başarılabilmektedir (4).

2.6.1.2 Gıda Veriminde Artış ve Yeterli Beslenme

Günümüzde halen dünyada yetersiz beslenme ve açlık sebebiyle ölümlerin görüldüğü ülkeler bulunmaktadır. Nüfusun hızla artması ise besin ihtiyacının karşılanması kaygısını beraberinde getirmekte, ekilebilir alanları artırmak mümkün olmadığı gibi, tarımsal üretimde kullanılacak tatlı su kaynakları da hızla azalmaktadır. Artan nüfusu besleyecek miktarda üretim birim alandan alınan ürün veriminin artırılması gerektiği için genetiği değiştirilmiş ürünlerin bu soruna bir çözüm olduğu düşünülmektedir. Hastalık ve zararlılara karşı dayanıklı genlerin aktarıldığı ürünlerle hem ilaçlama maliyetleri azaltılmakta, hem de verimde artış sağlanması hedeflenmektedir (2).

2.6.1.3. Yenilebilir Aşı Üretimi

Dünya üzerinde çok sayıda insan önlenemez sağlık sorunları olmasına karşın yaşamını kaybetmekte veya sakat kalmaktadır. Bu hastalıkların pek çoğunun önlenmesinde aşılama, en etkili yöntem olarak kabul edilmekte ancak aşılamanın pahalı olması, taşınması ve saklanması zor olması uygulanma şekli, uygulanması için eğitimli ihtiyaç duyulması, , insanların sosyokültürel yapısı gibi birçok nedenle pek çok kişinin aşılardan faydalanmasını engellemektedir. Tüketilen bitkilere aktarılan genler vasıtasıyla patojen mikroorganizmaların çeşitli proteinlerini sentezleyen bitkiler elde edilerek bu bitkilerin aşı olarak kullanılması için çalışılmaktadır. Örneğin Hepatit B, diyare, kolera, kızamık ve birçok hastalığa karşı genetiği değiştirilmiş meyve ve sebzeler kullanılmaktadır (2).

Genetiği değiştirilmiş organizmaları destekleyen gruplar, bu teknolojinin besin kalitesinin ve sağlığa yönelik faydalarının artırılmasında, bitkisel ve hayvansal ürün veriminin artırılmasında, meyve ve sebzelerin raf ömürlerinin ve organoleptik kalitelerinin iyileştirilmesinde, yenilebilir aşı ve ilaç üretiminde, insan hastalıklarının tedavisi ve organ nakli için kullanılmasında ve çevresel olarak birçok faydaları olacağı görüşündedirler.

Eleştirenlere göre ise besin kalitesindeki değişiklik, gıda güvenliği, alerjik reaksiyonlar ve bunların toksik etkileri ile ilgili önemli riskleri olabileceği ve genetiği değiştirilmiş ürünlerin etiketlenmesi, çevresel ve çeşitli grupların kaygıları ile dini, kültürel ve etik sorunların olduğunu ya da olacağını düşünmektedirler (24).

Bu yöntemin en önemli avantajı aşının oral olarak alınabilmesidir. Ayrıca ishal aşısı içeren muz, protein içeren patates, kuduz aşısı içeren mısır ve monoklonal antikor üreten mısır çeşitleri üretimi gibi çalışmalarla sağlık alanında gelişmeler sağlanmıştır. Son zamanlarda diyabet hastalarının insülini iğne yoluyla alması yerine ağız yoluyla alabilmesi için bitkilerde insülin üretimi çalışmaları üzerine yoğunlaşmıştır (2).

2.6.1.4 İnsan Hastalıklarının Tedavisi

Gıdaların besin değerinin artması insan sağlığını olumlu yönde etkiler. Ayrıca üretimde pestisit ve herbisitlere duyulan ihtiyacın azalması da gıda güvenliği, insan sağlığı, alerji ve duyarlılıkların azalmasını sebep olur. Antihipertansif etkisi olan ovokinin içeren soya, laktoz intoleransı olan bireyler için üretilmiş laktoz içeriği azaltılmış süt bunlara birer örnektir. Kolera ve diyarenin önlenmesi için genetiği değiştirilmiş patatesler üretilmiştir. Koleradan AIDS'e kadar birçok hastalık göz önüne alınarak aşı üretimi yapılmakta olup, bu gelişmeler insan sağlığını olumlu etkileyerek hayat kurtarmaktadır (2)

2.6.2 Olumsuz Etkiler

2.6.2.1 Antibiyotiklere Direnç Gösterme

GDO'lu ürünlerin sağlığımıza ne gibi etkileri olacağı kesin olarak netlik kazanmamıştır. Yabancı genetik materyal başka bir canlıya verildiğinde, bu genlerin çevredeki hastalık yapan bakteri veya mikroorganizmalarla veya bunları yiyen insan ve hayvanların bağırsaklarındaki mikroplarla da birleşme ihtimali vardır. Bu şekilde antibiyotiklere dirençli bakteriler oluşursa bu durum sağlık açısından olumsuz sonuçlar doğurabilir (2).

GDO üretimi sırasında markır gen olarak kullanılan antibiyotik direnç genleri çoğunlukla bakteriyel kökenli olup bu açıdan en çok tartışılan olasılıktır (25). GDO ürünlerin tüketilmesi ile bu antibiyotik direnç genlerinin insan bağırsak mikroflorasına veya patojen mikroorganizmalara aktarılması doğada zaten yaygın bir olgu olan mikroorganizmalarda antibiyotiğe karşı direnç düzeyinin artmasına yol açabilir (27,25). Bu durum patojenik mikroorganizmaların tedavisi için antibiyotiklerin terapötik değerlerini ortadan kaldırarak insan ve hayvan sağlığı için bir risk oluşturabilir (27).

2.6.2.2 Alerjik Etkiler

Genetik değiştirme teknolojisinin sebep olduğu sağlık problemlerinden bir diğeri de bazı insanlarda alerjik reaksiyonlar oluşturmasıdır. Gıda alerjileri bağışıklık sistemiyle ilgili olup insan vücudunda ağızda dil ve dudak şişmesi ve kaşıntı, gözde kızarma ve şişme, solunum yollarında nefes almada zorluk, sindirim sisteminde abdominal ağrılar, diyare, kusma ve deride ekzama, kızarıklıklar şeklinde görülebilir. Alerjik gıdalara örnek süt, yumurta, balık, kabuklu deniz mahsulleri, fıstık, soya fasulyesi ve buğday olarak verilebilir. Genetiği değiştirilmiş soya ve mısır tüketimi sonucu alerjik tepkiler gözlemlenmiş, soyaya aktarılan bir fındık geni nedeniyle, fındığa alerjisi olan insanlarda soya tüketimi sonucu alerjik reaksiyonlar görülmüştür. StarLink™ adlı mısır türünde yer alan bir Bt protein türünün daha yavaş sindirilmesi nedeniyle bazı kişilerde alerjik reaksiyonların gözlemlenmesi sonucu. ABD StarLink'in sadece insan tüketimi dışı amaçlar için üretimine izin vermektedir (2).

2.6.2.3 Toksik Etkiler

Genetiği değiştirilmiş ürünlerin olumsuz reaksiyonlarından biride toksin oluşturmalarıdır. 1967 yılında ABD'de Lenapo patatesi olarak tanımlanan patates, cips yapımında kullanılmak üzere kuru maddesi yüksek olacak şekilde geliştirilerek piyasaya sunulmuş, ancak iki yıl sonra bu patates türü solanin toksini oluşturması nedeniyle Amerikan Tarım Bakanlığı tarafından piyasadan toplanmıştır. Bunun dışında 1988-1989 yılları arasında Eosinofili-Miyalji Sendromu (EMS) nedeniyle 37 kişi ölmüş ve 1000 kişi hastalanmıştır. Araştırmacılar bu olaya L-Triptofan içeren besinlerin sebep olduğu düşünülmektedir.

GDO“lu ürünlerin hemen hemen %70“ine yakını, kuraklığa ve böceğe dayanıklılık sağlanması amacıyla taşır. Bu ürünlerin böcek ilacı içerdiğini belirten GDO karşıtları, bu mısırı tüketen canlılarda toksik etkilerin ortaya çıkabileceğini belirtmektedirler (2).

2.6.2.4 Kanserojen Etkiler

Son zamanlarda görülen ve hızla artan kanser vakaları daha erken yaşlarda görülmeye başlanmıştır. Bu sebepten GDO“lu ürünlerin kanserojen etkileri ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır. Genetiği değiştirilmiş sığır büyüme hormonu (rBGH) süt verimini artırmak için ineklere enjekte edilmektedir. rBGH sütte insülin benzeri büyüme faktörünün (IGF-I) artmasına neden olmaktadır. IGF-I hem normal hücrelerin hem de kanserli hücrelerin büyümesine neden olmaktadır. Kanda IGF-I seviyesinin artması lenf, göğüs, rahim ve yumurtalık, prostat, kolon, akciğer ve pankreas kanserlerini ortaya çıkarabilmektedir.(2)

Özellikle, herbisitlere dayanıklılığı sağlayan pamuk, soya, mısır ve kolza çeşitlerinde kullanılan "bromoxynil" ve "glufosinate" gibi kimyasal maddelerin doğrudan kanser yapıcı oldukları bilinmektedir (28).

2.7 Gdo'ların Sosyo Ekonomik Boyutu

Disiplinlerarası bir bilim dalı olan biyoteknolojideki gelişmeler uluslararası bir perspektifle izlenmektedir. Özellikle ülkenin ticaretine, ekonomik büyümesine ve rekabetine getirebileceği katkılar dikkate alınarak hedefler belirlendiği ve işbirlikleri yarattığı tespit edilmiştir. Bu bağlamda; dünyada transgenik bitkilerin % 73'ü gelişmiş ülkelerde, % 27'si Arjantin, Çin, Güney Afrika ve Meksika gibi gelişmekte olan ülkelerde yetiştirilmektedir. 2003 yılında genetiği değiştirilmiş tarım ürünlerinin tahmini pazar değerinin 4,5 milyar dolar olduğu vurgulanmıştır. Yani 31 milyar dolarlık tarımsal ürün pazarının % 15'ini, 30 milyar dolarlık ticari tohum pazarının ise % 13'ünü genetiği değiştirilmiş ürünler oluşturmuştur.

Genetik yapısı değiştirilen ürünlerin en büyük sakıncalarından birisi de ekonomik açıdan bu ürünlerin patent hakkının tüm dünyada birkaç çok uluslu şirketin elinde olmasıdır (2).

GDO'ların üretimi ve pazara sunulması konusunda çeşitli tartışmalar devam etmektedir. Avrupa Birliği genel olarak kamuoyu tepkisinden çekindiği için bu uygulamalara pek sıcak bakmasa da İngiltere'de hükümet bazı alanlarda üretime izin verdi. Almanya, Fransa, Romanya, Bulgaristan gibi ülkelerde de test ekimleri şeklinde düşük miktarlarda GDO'lu ürün tarımı yapılmaktadır (29) .

GDO'lar günümüzde özellikle tekniği ön plana çıkarılarak, hem teknik hem de ürün olarak patent kapsamında değerlendirilmiştir. Gen bulunması ve tanımlanması çok zor olduğu ve büyük yatırımlar gerektirdiği için Avrupa Patent Sözleşmesi'ne göre işlevini göstermek şartıyla patent alınabilmektedir. Patentli genetik olarak değiştirilmiş tohumu eken çiftçi hasattan sonra elinde kalan tohumları ekinde yeniden kullanınca patent sahibine bir bedel ödemek zorunda kalmış böylece patentli tohumu saklaması yasaklanmıştır. Tohumu saklayan bazı çiftçiler ise patent sahibi firmalar tarafından dava edilmişler; mahkeme süreçlerinden kurtulmak için ürünlerini yakmış, üretici firmaya tazminat ödemiş ve banka hesaplarını incelemeye açmışlardır (2).

Bu yüzden birçok çiftçi "terminatör" denilen yok edici genlerle kısırlaştırılan tohumları her yıl almak zorunda kalmış ve çok uluslu tohum üretici şirketlere bağımlı kılınmıştır. Bu durum özellikle küçük çiftçilerin bundan zarar görmesine yol açmasının yanı sıra geleneksel tarımı da engellemiştir. GDO'lar konusunda özellikle çiftçiler arasında da farklı görüşlerin benimsendiği görülmüştür. (2).

2.8 Gen Aktarım Yöntemleri

Gen aktarımı agrobacterium bakterisi aracılığıyla ya da doğrudan gen aktarım yöntemleriyle yapılabilir (5).

2.8.1 Agrobacterium Aracılığıyla Gen Aktarımı

Agrobacterium, toprakta yaşayan, gram negatif, spor oluşturmeyen, hareketli bir basil bakterisi olup, bu bakterinin iki türü (Agrobacterium tumefaciens ve Agrobacterium rhizogenes) gen aktarımında kullanılmaktadır. A.tumefaciens bakterisi günümüzde, bitkilere gen transferinde en yaygın olarak kullanılan araçtır. Genelde kök boğazında oluşan yaralardan bitkiye girerek, kök boğazında düzensiz bölünmeler sonucu tümör

tümör oluşumuna neden olmaktadır. Bir kez tümör oluşumu başladıktan sonra, bakteri olmadan ve yardımcı hormonlara ihtiyaç duymadan tümör büyütülebilmektedir. A.rhizogenes ise yaralanan bitki köklerinden salgılanan fenolik bileşiklere karşı hassastır. Bu fenolik bileşikler bakterideki virulans genleri uyararak ve bakteri kendi DNA bölgesini bitki genomuna aktararak bitkilerde saçak kök hastalığına yol açar (5).

Gelişme süresince çok fazla büyüme noktaları meydana getirmeleri nedeniyle normal köklerden daha hızlı bir şekilde büyür ve hormon gerektirmeden kolaylıkla üreyebilirler. A.tumefaciens aracılığıyla tütün, patates, kanola ve domates gibi birçok kültür bitkisine gen transferi yapılabilmektedir. buğdaygillere gen aktarım yeteneğinin bulunmaması ve baklagiller gibi diğer bazı bitki türlerinde başarılı olmama bu yöntemin zayıf tarafıdır. A.rhizogenes ile gen aktarımı basit bir yöntem olmasına karşın son yıllarda A.tumefaciens aracılığıyla ve fiziksel yöntemlerle gen aktarımı daha önemli gelişmeler kaydetmiştir. Ancak A.rhizogenes biyolojik çalışmalar yapmak üzere sekonder metabolit üretimi için saçak kök üretiminde etkin bir biçimde kullanılmaktadır (5).

2.8.2 Doğrudan Gen Aktarım Yöntemleri

2.8.2.1 Elektroporasyon ve PEG Aracılığıyla Gen Aktarımı

Yüksek voltajlı elektrik (elektroporasyon) veya kimyasal maddelerle (PEG: polietilen glikol) hücre zarında geçici porlar oluşturularak zarın geçirgenliği artırılarak istenilen geni taşıyan DNA parçasının hücre içine girmesi sağlanır (5).

2.8.2.2 Biyolistik

Biyolistik gen aktarımı partikül tabancasıyla, metal partiküllere yapıştırılmış DNA parçasının ya da doğrudan faj, bakteri veya maya hücrelerinin, ateşleme mekanizmasıyla hedef hücre ve dokulara bombardımanı yoluyla yapılmaktadır (5).

2.8.2.3 Mikroenjeksiyon

Aktarılacak genleri taşıyan DNA parçası çok ince kılcal pipetlerle veya enjektörle mikroskop altında doğrudan immobilize edilmiş hedef hücrelere enjekte edilir. Kavramsal olarak basit bir yöntem gibi gözüksede tek seferde tek bir hücreye aktarım yapılması, yöntemin yavaş olması ve çalışan kişinin el becerisini gerektirmesi nedeniyle uygulaması zordur (5).

2.8.2.4 Sonikasyon

Ses dalgaları kullanılarak hücreler arasında ve hücre zarında boşluklar açılır ve DNA parçalarının hücre içine girmesi sağlanır (5).

2.8.2.5 Desikasyon

Dokuların önce soldurulup daha sonra aktarılmak istenen DNA'nın bulunduğu bir ortamda su alımı sonucu DNA'nın hücre içine alınmasını sağlayan bir yöntemdir (5)

2.8.2.6 Lazer Mikro Işınlarıyla Aktarım

UV lazer mikro ışınları ile hücrelerde mikro delikler açılarak DNA parçalarının hücre içine girmesi sağlanır (5).

2.8.2.7 Fiberler Aracılığıyla Aktarım

Silikon karbid sert seramik bir madde olup ve kırıldığı zaman kolayca keskin kenarlar oluşmaktadır. Gen aktarılmak istenen bitki, DNA ve silikon karbid fiberler içeren tampon içerisine aktarılır ve kuvvetli bir biçimde karıştırılır. Silikon karbid fiberler ve süspansiyon hücreleri arasındaki çarpışma sonucu fiberler hücre duvarında ve zarında delik açılmasına neden olur ve böylece süspansiyon hücrelerine DNA'nın girişi sağlanır. Fiberler kullanılarak mısır, tütün, pirinç, buğdaya gen aktarımı yapılmıştır (5).

2.8.2.8 Polen Tüpü Aracılığıyla Aktarım

Tozlaşmanın ardından DNA'nın kesilmiş stigma yüzeyine uygulanmasıyla DNA'nın polen tüpünden geçerek ovule varması ile aktarım yapılır. İlk olarak pirinçte kullanılmış, sonra buğday, soya, karpuz gibi diğer türlere de uygulanmıştır (5).

2.8.2.9 Lipozomlarla Gen Transferi

DNA taşıyan lipozomların bitki protoplastlarının hücre zarı ile füzyonu sonucu bitkilere gen aktarımı gerçekleştirilebilmektedir (5).

2.9 Dünya Ülkeleri Açısından GDO'ların Hukuki Boyutu

Dünya ülkeleri açısından GDO'ların hukuki boyutu aşağıda özetlenmiştir.

1. UNIDO (Birleşmiş Milletler Endüstriyel Kalkınma Organizasyonu) Sekreteryası'nın 1991 Temmuz ayında yayınladığı "Organizmaların Çevreye Salınımı Konusunda Gönüllü Talimatı",

2. FAO (BM Gıda ve Tarım Organizasyonu) tarafından Bitki ve Genetik Kaynakları Komisyonu (CPGR)'nin talebi üzerine hazırlanan ve 1991 Kasım ayında yayınlanan "Bitki Biyoteknolojisi Talimatı",
3. Gündem 21 (1992) ve Gündem 21'i hayata geçirme amacı taşıyan "Biyoteknolojinin Risklerinin Önlenmesi İçin Uluslararası Teknik Direktifleri",
4. "BM Biyolojik Çeşitlilik Sözleşme'sinin" (1996) özellikle 8g ve 19. maddeleri,
5. Gelişmekte olan ülkelerin, biyogüvenlik kapasitelerini oluşturmalarında UNEP (BM Çevre Programı) tarafından hazırlanmış olan "Biyogüvenlik Kılavuzu" (1997),
6. BM Biyolojik Çeşitlilik Sözleşmesi'ne ek protokol olarak hazırlanan ve "Cartagena Protokolü" denilen "Biyolojik Çeşitlilik Anlaşması Biyogüvenlik Protokolü" (2000)

Cartagena Protokolü; ithalatçı ülkelere, bilimsel kanıtları olmasa da sağlık ve çevre risklerine dayanarak, GDO'lu ürünlerin ithalatını yasaklama olanağını vermiştir. Ayrıca, BM Biyolojik Çeşitlilik Sözleşmesi ile Cartagena Protokolü uluslar arası bağlayıcı özellikler taşımaktadır (1,13,14).

2.10 Avrupa Birliği'nde GDO'ların Hukuki Boyutu

Avrupa Birliği, gıda güvenliği ile ilişkili mevzuatını 28 Ocak 2002 tarihinde 178/2002 sayılı AB yönetmeliği ile güncelleştirmiştir. 23.01.2002 tarihinde ise Avrupa Birliği Komisyonun "Yaşam Bilimleri ve Biyoteknoloji" başlığı altındaki raporu ile Avrupa'nın bu konudaki stratejileri ve çalışma planlarını ortaya koymuştur. Avrupa Birliği gıda güvenliği yetkisini, Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA-European Food Authority) çatısı altında toplamıştır. Nitekim, EFSA'ya GDO'lar ile ilgili bilimsel görüş veren bilimsel paneller de kurulmuştur (15,16).

Ayrıca, Cartagena Protokol'ünü Avrupa Birliği üye ülkeleri de 2000 yılında imzalamışlardır. Avrupa Topluluğu açısından biyogüvenlik üzerine Protokol'ün sonuçları ile ilgili Temmuz 2002 tarihinde 628/2002/EC sayılı Kararı yayımlanmıştır. Avrupa Birliği üye ülkelerinde direktifler doğrultusunda GDO ürünlerinin üretilmesine ve satışına izin verilmiş ancak, GDO'lu ürünlerin etiketlerinde bu duruma işaret edilmesi gerektiği vurgulanmıştır. Avrupa Birliği'nde biyoçeşitliliğin yani doğanın korunması için birtakım kurallar belirlenmiştir. Avrupa Birliği'nin sınırları içinde ve ötesinde habitatları ve türleri koruma programları "Biyoçeşitlilik Hakkında Sözleşme" içinde öngörülmüştür. Birliğin biyoçeşitliliği koruma stratejisi 1992 habitatlar yönergesi

çerçevesinde “Natura 2000” programını kullanarak; Avrupa habitatları ve aralarındaki koridorlarında bağlantılı bir ağın oluşturulması, habitatların korunması ve önemli habitatların içinde ve çevresinde sürdürülebilir toprak yönetim uygulamaların teşvikinin birleştirilmesi üzerine kurulmuştur.

Topluluk doğal kaynaklar, tarım, balıkçılık, kalkınma ve ekonomik işbirliği alanlarında biyoçeşitliliğin teşvik edilmesine ilişkin bir eylem planı hazırlamış; ayrıca Avrupa doğal hayatının korunmasına ilişkin Bern Konvansiyonu, göçmen kuşların korunmasına ilişkin Bonn Konvansiyonu ve biyoçeşitlilik ile ilgili de Rio de Janeiro Konvansiyonu’na (15 Numaralı Prensibi) taraf olmuştur.

Türkiye’de GDO’ların Hukuki Boyutu Helsinki Zirvesi ile 1999 yılında Türkiye Avrupa Birliği’ne aday ülke olarak kabul edilmiş ve Kopenhag Kriterleri ile Avrupa Birliği müktesebatına uyum süreci dolayısıyla GDO’larla ilgili mevzuat uyumu süreci de başlamıştır. 24 Mayıs 2000 tarihinde Cartagena Protokolünü Türkiye de imzalamış ve 11 Eylül 2003’te yürürlüğe girmiştir. Ayrıca, Fransa’da kurulan ve ülkeler arası bitki çeşitlerinin korunmasını amaçlayan ve mevzuat uyumu ile yardımlaşmayı sağlayan uluslararası bir organizasyon UPOV’un (Uluslararası Bitki Çeşitleri Birliği) da 1961’de üyesi olmuştur.

2.11 Türkiye’de GDO’ların Durumu ve Yasal Düzenlemeler

Ülkemizde transgenik bitkilerle ilgili mevzuat hazırlığı çalışmalarına Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından 1998 yılında başlanmıştır. Amacı; "Bilimsel ve teknolojik gelişmeler çerçevesinde, modern biyoteknoloji kullanılarak elde edilen genetik yapısı değiştirilmiş organizmalar ve ürünlerden kaynaklanabilecek riskleri engellemek, insan, hayvan ve bitki sağlığı ile çevrenin ve ekolojik çeşitliliğin korunması, sürdürüle-bilirliğinin sağlanması amacıyla biyogüvenlik sisteminin kurulması ve uygulanması, bu faaliyetlerin denetlenmesi, düzenlenmesi ve izlenmesi ile ilgili usul ve esasları belirlemek" olan ve 18.03.2010 tarihinde yürürlüğe giren 5977 sayılı "Biyogüvenlik Kanunu" gereğince GDO ve ürünlerinin onay alınmaksızın piyasaya sürülmesi, kullanılması veya kullandırılması, genetiği değiştirilmiş bitki ve hayvanların üretimi, GDO ve ürünlerinin piyasaya sürme kapsamında belirlenen amaç ve alan dışında kullanımı, GDO ve ürünlerinin bebek mamaları ve bebek formülleri, devam mamaları ve devam formülleri ile bebek ve küçük çocuk ek besinlerinde

Kullanılması yasaktır(2). Kanun gereği, GDO ve ürünleri ile ilgili başvuruların değerlendirilmesi ve kanunun 9'uncu maddesinde belirtilen görevlerin yürütülmesi için "Biyogüvenlik Kurulu" oluşturulur (17).Kurul; uzmanlar listesini oluşturmak; uzmanlar listesindeki kişilerden seçilen bilimsel komiteleri oluşturmak; her bir başvuru için uzmanlar listesinden bilimsel komitelerin üyelerini seçmek; risk ve sosyo ekonomik değerlendirme raporlarını dikkate alarak kurul kararlarını oluşturmak; izleme raporlarına dayanarak kararın kısmen veya tamamen iptali ile yasaklama, toplatma, imha ve benzeri yaptırımlara ilişkin kararlarını Bakanlığa sunmak; etik komite oluşturmakla görevlidir.

Biyogüvenlik Kanunu, izin alınmış olsa dahi, insan, hayvan ve bitki sağlığı ile çevrenin ve biyolojik çeşitliliğin korunması ve sürdürülebilirliğinin sağlanmasına karşı oluşan zararlardan GDO ve ürünleri ile ilgili faaliyetlerde bulunanları sorumlu tutmaktadır. Kanun hükümlerinin ihlal eden kişiler, 3 yıldan 12 yıla kadar hapis ve yüklü miktarda adli para cezası ile cezalandırılacaktır (2). 13.08.2010 tarihinde yürürlüğe giren ve 5977 sayılı "Biyogüvenlik Kanunu"na dayanan "Genetik Yapısı Değiştirilmiş Organizmalar ve Ürünlerine Dair Yönetmelik" ile "Bilimsel ve teknolojik gelişmeler çerçevesinde, modern biyoteknoloji kullanılarak elde edilen genetik yapısı organizmalar ve ürünlerinden kaynaklanabilecek risklerin engellenmesi, insan, hayvan ve bitki sağlığı ile çevrenin ve biyolojik çeşitliliğin korunması için;

a) Gıda ve yem amaçlı genetik yapısı değiştirilmiş organizma ve ürünleri ile ilgili başvuru, değerlendirme, karar, ithalat, işleme, ihracat, etiketleme, izleme, piyasaya sürme, denetim ve kontrole;

b) Genetik yapısı değiştirilmiş organizmalar ile ilgili araştırma, geliştirme ve deneysel amaçlarla yapılacak faaliyetlerin, harici çevre ile temasını önleyecek şekilde, kontrollü şartlar altında, sınırlandırılmış belirli bir alanda denemelerinin yapılmasına;

c) Genetik yapısı değiştirilmiş mikroorganizmalar ve ürünleri ile ilgili araştırma, geliştirme, başvuru, değerlendirme, karar, ithalat, ihracat, işleme, etiketleme, piyasaya sürme, izleme, denetim, kontrol ve kapalı alan faaliyetlerine dair usul ve esasları belirlemesi" amaçlanmıştır.

Türkiye’de 2011 Ekim ayı itibarıyla, 5977 sayılı "Biyogüvenlik Kanunu" gereği; herbisit tolerans genini içeren A2704-12 soya fasulyesi ve ürünlerinin; herbisit tolerans genini içeren MON40-3-2 soya fasulyesi ve ürünlerinin; herbisit tolerans genini içeren MON89788 soya fasulyesi ve ürünlerinin yalnızca hayvan yemlerinde kullanılmasına izin verilmiştir

Dünyada ticari olarak üretimine 1996 yılında 2.8 milyon hektar ile başlanılan transgenik bitkilerin ekim alanı 2010 yılında 148 milyon hektara ulaşmıştır. Bitki biyoteknolojisinin gün geçtikçe önem kazandığı ortadadır. Bu nedenle, bu teknolojiyi reddetmek yerine olumsuzluklarını giderme yolunda çaba harcanması gerekmektedir.

Ülkemizde tarım, çevre ve teknoloji politikalarının bütünleşik bir anlayışla değerlendirildiği ulusal bir biyogüvenlik politikasına olan ihtiyaç giderek artmaktadır. Bu nedenle insan, hayvan ve bitki sağlığı ile çevrenin ve ekolojik çeşitliliğin korunması, sürdürüle-bilirliğinin sağlanması amacıyla biyogüvenlik sisteminin kurulması ve uygulanmasını amaçlayan Biyogüvenlik Kanunu’nun bütünüyle eyleme geçirilmesi, bu konudaki mevcut boşluğu büyük ölçüde kapatacaktır (17).

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal:

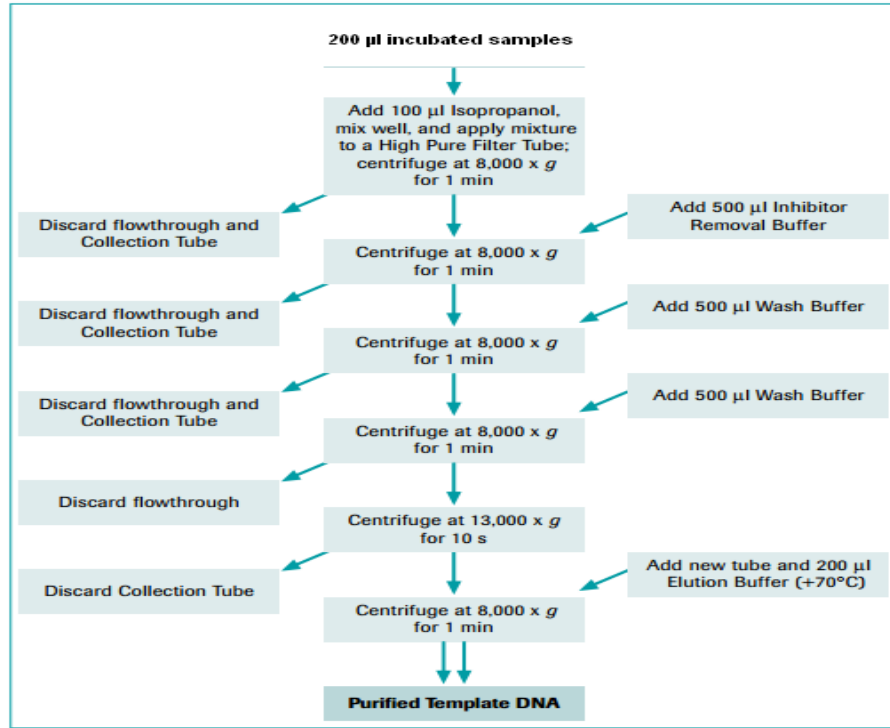
Çalışmamızda 20 adet paketli ve 20 adet açık bal örneğinde GDO olup olmadığı araştırılmıştır. Örneklerden paketli olanlar farklı markalara ait olup süpermarketlerden temin edilirken açık olan örnekler ise numune olarak toplanmıştır. Örnekler steril kap içerisinde toplanıp kısa sürede analiz için laboratuara ulaştırılmıştır.

Metod: .

Örneklerden 1'er yemek kaşığı alınarak DNA izolasyonu yapılmıştır. İzole edilen DNA'lar Roche 480 II Real time PCR cihazı ile çalışılmış, testin performansını değerlendirmek için kontrol testi de yapılmıştır. İncelenen bal örneklerinde GDO varlığına rastlanmamıştır.

Nüklei Asit İzolasyonu

Çalışmamızda örneklerden DNA izolasyonları, High Pure PCR Template Preparation Kit yapılmıştır. Bunun için öncelikle 5 gr bal örneği bir epondarfa alındı ve proteinaz K eklenerek 95 °C'lik su banyosunda 15 dk bekletildi. İnkübasyon sonrası 200 µl alınarak Şekil 3.1 teki akışa göre işlemler yapıldı.



Şekil 3.1: DNA izolasyonu çalışma akış planı

Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Nükleik Asit Çoğaltma Yöntemleri

Nükleik asit çoğaltma ve tesbit yöntemleri genel olarak iki grupta incelenmektedir.

- Nükleik asit prob hibridizasyon yöntemleri
- Nükleik asit amplifikasyon yöntemleri (NAA).

Nükleik asit prob hibridizasyon yöntemleri, moleküler yöntemlerin en eski ve en basit olanıdır. Örnekteki hedef nükleik asit dizisi, komplementeri olan işaretli bir prob ile hibritlenmekte ve tanı konmaktadır. DNA'nın kendini eşlemesi esasına dayanır. Kültür yöntemi ile üretilmeyen ya da identifikasyonu zor olan mikroorganizmaların genomlarının tespit edilerek, teşhis edilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Gerekli işlemlerin fazla olması ve kullanım alanının kısıtlı olması nedeniyle çok fazla kullanılmayan bir yöntemdir.

Nükleik asit amplifikasyon yöntemleri ise son yıllarda sıklıkla kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden en önemlileri polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)'dur. Bu yöntem de DNA'nın kendini eşlemesi esasına dayanır. Hedef bölgeye uygun baz dizileri kullanılarak istenen DNA parçasının çoğaltılması amaçlanır. Gıdadan sağlığa kadar bir çok alanda kullanılmaktadır. Özellikle tıbbi araştırmalarda kullanılmaktadır.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

PCR, hedef DNA/RNA'nın selektif olarak amplifikasyonuna olanak verir. Bunlar:

- Hedef diziyi taşıyan kalıp DNA
- Kalıp DNA ile eşleşebilen 2 tür oligonükleotid primeri
- Dört tür dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP)
- MgCl₂

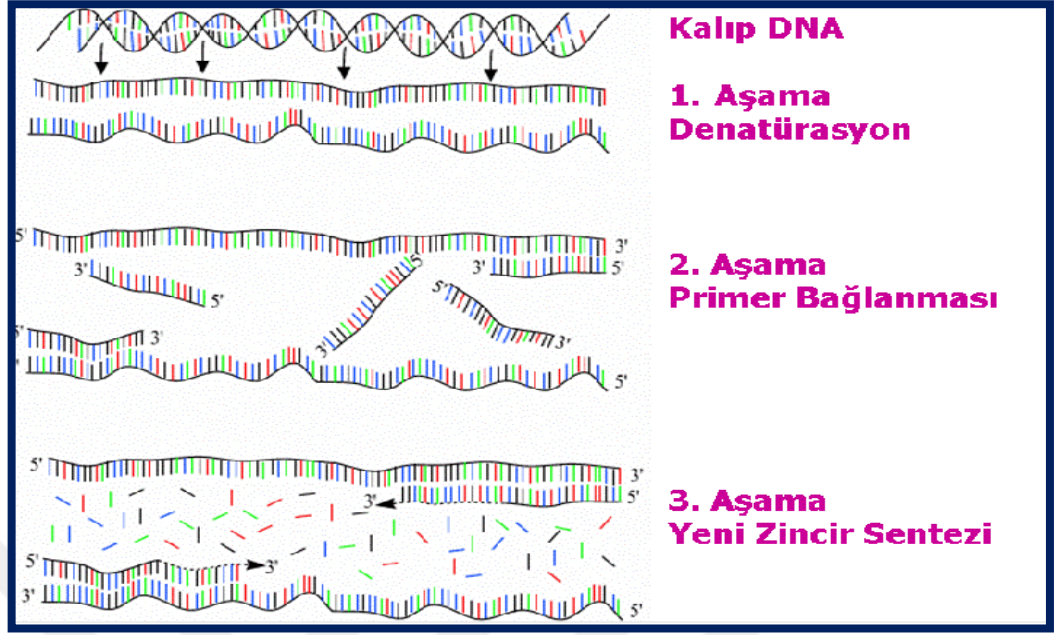
PCR üç aşamalı bir yöntemdir. Bunlar; denatürasyon, bağlanma (annealing) ve uzama (extension) olup, birbirini izlerler.

Denatürasyon, çift iplikli DNA'nın birkaç saniye 94-96°C'de ısı ile tek zincirli DNA şekline dönüşmesidir.

Bağlanma, örneğin 30-60 °C'de tutularak, primerin hedef bölgeye bağlanmasıdır.

Uzama ise polimeraz enzimi yardımıyla tek zincirli DNA kalıplarına bağlanan primerlerin 5'→3' yönünde uzatılmasıdır. Uzama genellikle 65-72 °C'de gerçekleşmektedir.

Bu üç aşama PCR'da bir siklusu oluşturur (Şekil 3.2) ve bir PCR'da ortalama 30-45 siklus arasında olmaktadır. PCR, ısı döngülerini sağlayan ve thermal cycler adı verilen cihazlarda gerçekleşir. Bu cihazlar, PCR örneğini programlanan ısı derecelerinde ve istenen sürelerde tutmaya yararlar.



Şekil 3.2 Polimeraz zincir reaksiyonunda şematik olarak bir siklusun aşamaları.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu Çeşitleri

1. İnvers (Tersine Dönmüş) PCR
2. Homopolimerli PCR
3. İn situ PCR
4. Hot start PCR
5. Multipleks PCR
6. Kantitatif PCR
7. Nested, seminested PCR
8. RT (Revers transcriptase) PCR
9. Touch down PCR
10. Consensus PCR
11. Real time PCR

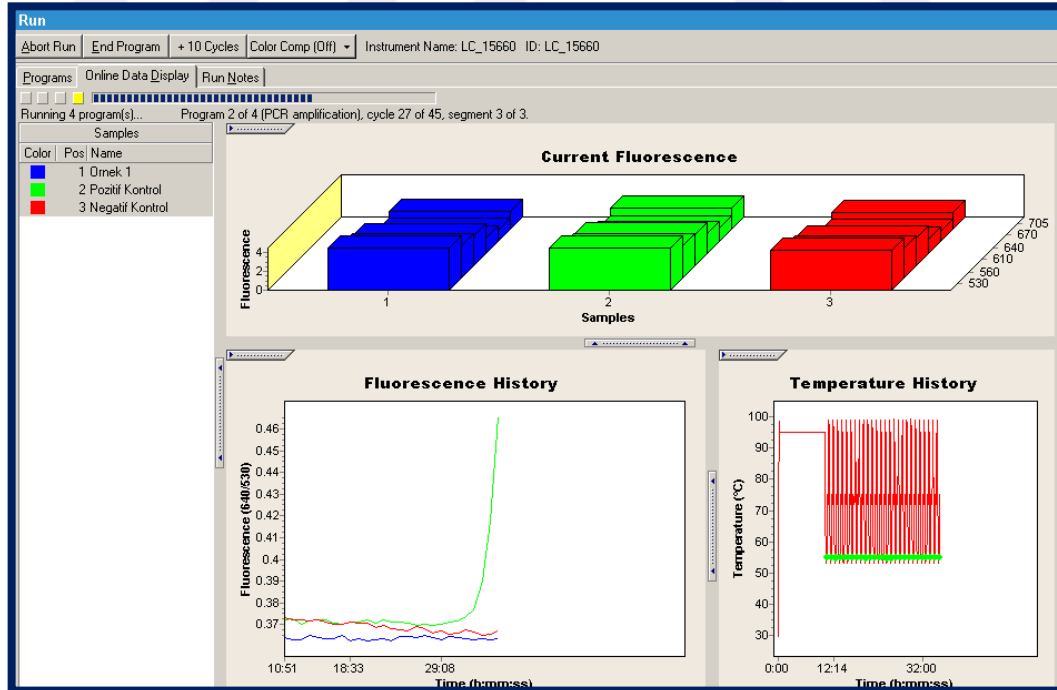
Bu PCR çeşitlerinden amaca en uygun olanı seçilmelidir. Çalışmamızda son yıllarda kullanımı sıklıkla artan real time PCR yöntemi kullanılmıştır [94].

Real Time Pcr

PCR reaksiyonlarında sıcaklık döngülerini sağlamak için kullanılan cihazların (thermocycler) hassas ölçüm aletleriyle birleştirilmesi, real time PCR olarak adlandırılan yeni bir yöntemin gelişmesine neden olmuştur. Real time PCR'da ürünlerin analizi reaksiyon

sırasında yapılmaktadır. Bu nedenle, agaroz jel elektroforezi, DNA bantlarının mor ötesi ışık altında görüntülenmesi gibi işlemlerin uygulanmasına gerek kalmamaktadır. Real time PCR ürünlerinin kalitatif ve kantitatif analizlerinde, diziye özgün olmayan floresan boyalardan ya da diziye özgün problemlardan yararlanılmaktadır.

Real time PCR, reaksiyon esnasında her bir PCR siklusunda yeterli miktarda ürünün verdiği floresans ışığa göre çalışıp, reaksiyonu aşama aşama izleyen, işlemin sonuna kadar oluşan ürünü kontrol eden bir sistemdir. Yani sonuçların çalışma anında, eş zamanlı olarak görülebildiği sistemlerdir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Çalışma esnasında görüntülenen real time PCR görüntü

Real time PCR sayesinde DNA ve RNA örnekleri kalitatif ve kantitatif olarak kısa sürede analiz edilebilmekte, çok sayıda örnekle son derece düşük kontaminasyon riskiyle güvenle çalışılabilmektedir. 25 bç'den 10.000 bç'ne kadar olan spesifik DNA dizileri bu yöntemle amplifiye edilebilir. Çok hızlı olmasının yanı sıra duyarlılığı ve özgüllüğü yüksektir. Özellikle Taqman problemleri gibi diziyeye özgül olan problemler kullanıldığında duyarlılık ve özgüllük de artmaktadır.

Real time PCR'da çeşitli prob sistemleri ve boyalar kullanılmaktadır. Bunlar:

Özgül floresan işaretli boyalar

- FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer)
- Taqman prob
- Scorpion primerleri
- Hibridizasyon problemleri

Özgül olmayan floresan işaretli problemler

- Sybr Green
- Etidyum Bromür (30)

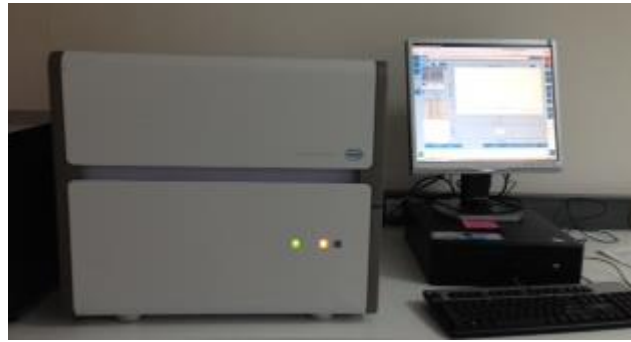
GDO PCR

Çalışmamızda SureFood® GMO SCREEN 4plex 35S/NOS/FMV/IAC kiti kullanıldı. PCR (Polymerase Chain Reaction) DNA hedef dizisini çoğaltır ve daha sonra bu dizinin real time'da floresans işaretli hibridizasyon probu yoluyla tespit edilir. Bu kit GMO real time PCR kiti olup FAM/TAMRA işaretli TaqMan problemleri kullanır.

This kit can be used for screening of genetically modified organisms (GMOs) in food, feed and seeds. For this purpose, PCR systems for detection of the 35S Cauliflower Mosaic Virus (CaMV) promoter DNA sequence, A. tumefaciens NOS terminator DNA sequence and for detection of the 34S FMV promoter DNA sequence are applied. Additionally the kit contains an internal inhibition control.

. The real-time PCR assay can be used with established real-time PCR instruments, equipped for detection of four fluorescence emissions at 522 nm, 553 nm, 610 nm and 670 nm (FAM, VIC, ROX and Cy5) at the same time (Rotor-Gene Q, Stratagene MxSeries, BioRad CFX96, Roche LightCycler® 480* etc.). This kit has a limit of detection of < 5 DNA copies.

Çalışmamızda Roche LightCycler® 480 Instrument II Cihazı kullanıldı. The LightCycler® 480 System is a high-performance, medium- to high-throughput PCR platform (96- or 384-well plates) that provides various methods for gene detection, gene expression analysis, genetic variation analysis, and array data validation. The system features the LightCycler® 480 Instrument, a versatile, plate-based real-time PCR device that supports mono- or multicolor applications, as well as multiplex protocols. The benchtop instrument is easily customizable to meet changing user requirements, and can be integrated into everyday use as a robotically controlled, automated high-throughput solution. The LightCycler® 480 Instrument is designed for general laboratory use and is not intended for use in diagnostic procedures.



Şekil 3.4 Roche The LightCycler® 480 System Machine.

PCR Mix Preparation: Her çalışmada mutlaka pozitif kontrol çalışıldı. Çalışma esnasında PCR bileşenleri oda sıcaklığında değil, buz kalıp üzerinde tutuldu. PCR mix kitin önerdiği şekilde hazırlandı (Tablo 3.1). Çalışılacak örnek kadar miktar hesaplandı, daha sonra PCR plate'ine 20'şer μl olacak şekilde dağıtıldı. Daha sonra 5 μl DNA her bir kuyucuğa yerleştirildi. Negatif kontrol olarak steril distile su kullanıldı. Kontaminasyonu önlemek için son pozitif kontrol konuldu ve plağın üzerine koruyucu film yerleştirildi. Testin performansını etkilememek için; film üzerine el değmemesine özen gösterildi.

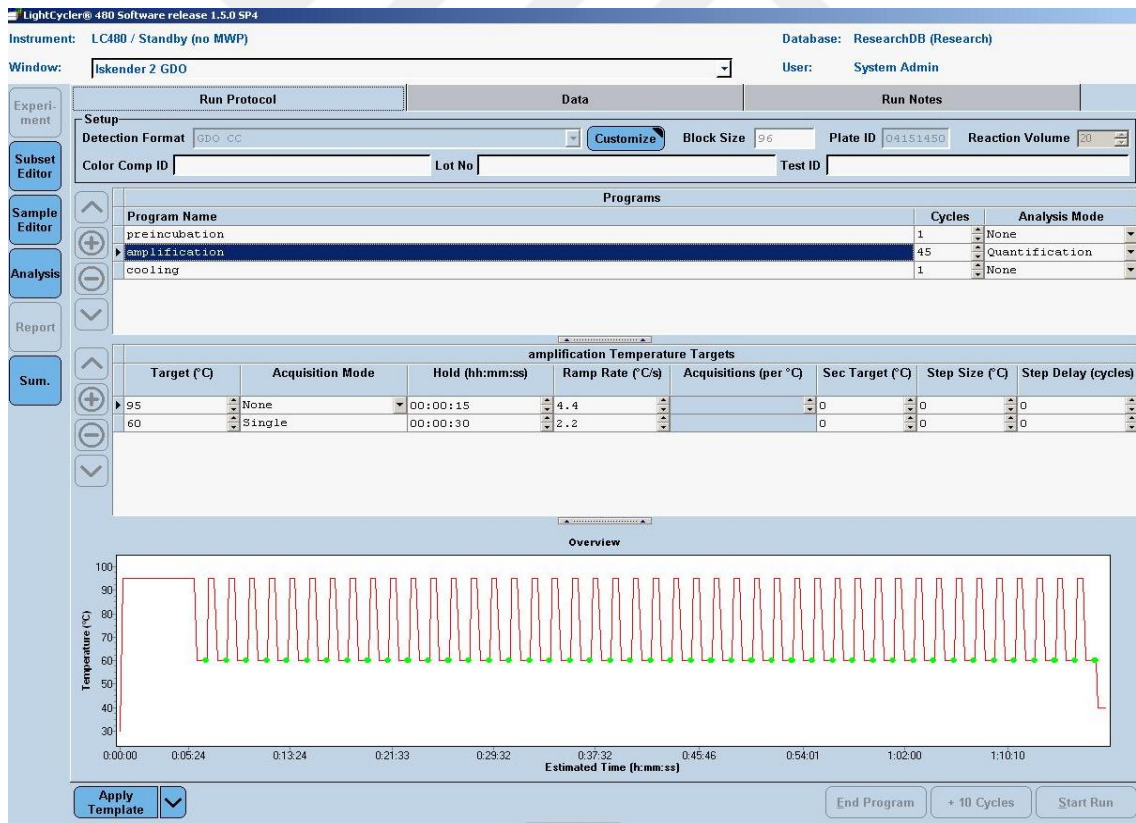
Tablo 3.1: PCR Mix Preparation

Components for master mix	Amount per reaction
Reaction mix	19.9 μl
Taq polymerase	0.1 μl
Total volume	20.0 μl
DNA	5 μl

PCR Conditions: Plate santrifüj edildikten sonra cihaza yüklendi ve kitin önerdiği protokole (tablo 3.2) göre cihaza giriş yapıldı (şekil 3.5) (Tablo 3.2)

Tablo 3.2: PCR Conditions

Analysis Mode	Segment	Cycle	Temperature (°C)	Hold Time (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)	Acquisition Mode
Initial denaturation						
None	1	1	95	5 min.	Maximum	None
Amplifikasyon						
Quantification	Denaturation	45	95	15 sec.	Maximum	None
	Annealing/ Extension		60	30 sec.	Maximum	Single
Cooling Step						
None	1	1	40	30 sec.	Maximum	None



Şekil 3.5 Roche The LightCycler® 480 System Screen

35S gen bölgesi için kalite kontrol sonuçları negative olarak bulunmuştur (şekil4.1).

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

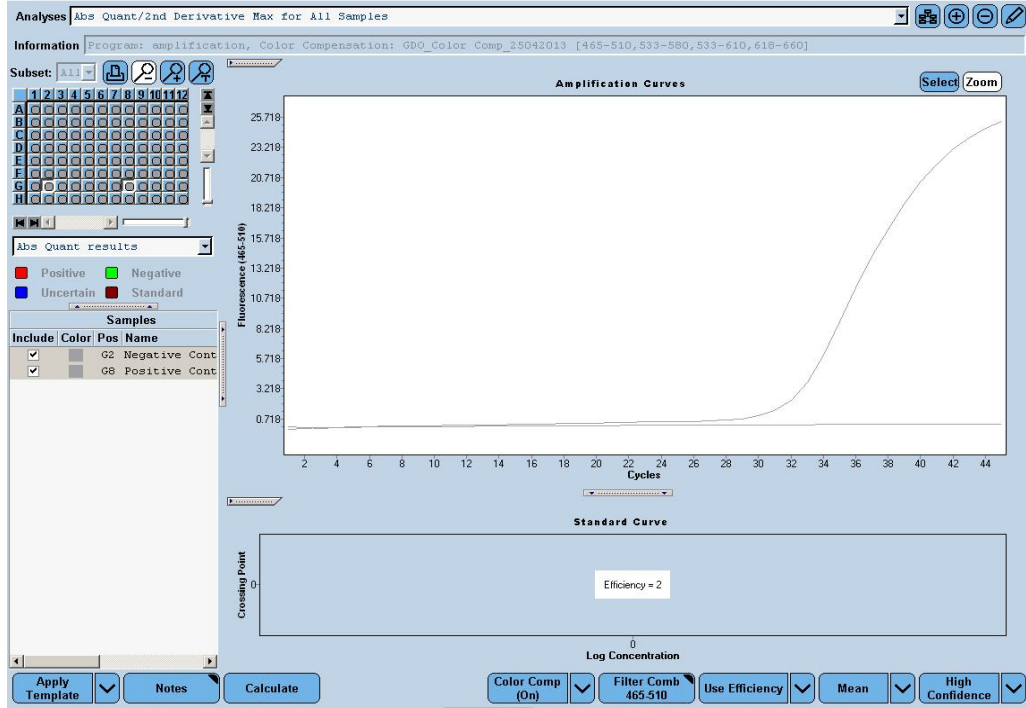
SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Kalite Kontrol sonuçları: Testin performansını değerlendirmek için öncelikle her bir bölge için önerilen kanallarda (tablo 4.1) kontrollerin çalışıp çalışmadığına bakıldı (şekil 4.1-4.3). Çalışmalarda negatif kontrolde kontaminasyona rastlanmadı

Tablo: 4.1 Interpretation of results.

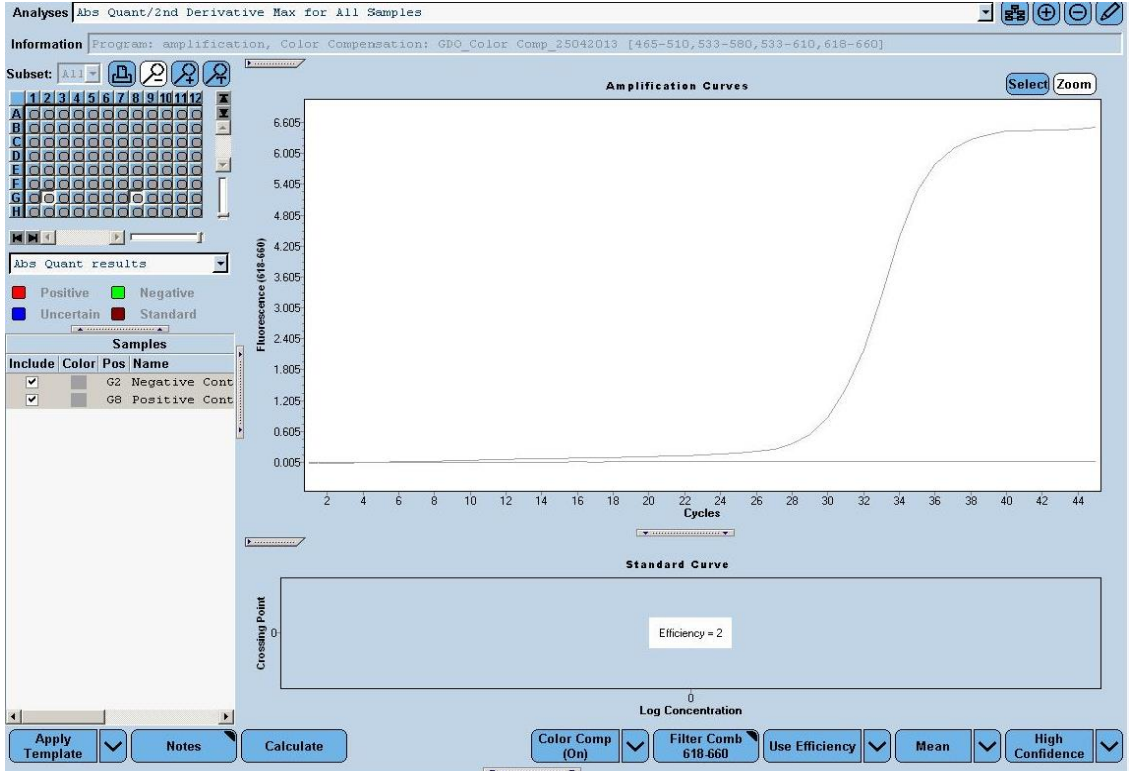
Region Name	Dye	Detection Channel
35S	FAM	465/510
NOS	Cy5	618/660
FMV	ROX	533/610
Amplification Control	VIC/HEX	533/580

Quality control results were found out to be negative for FMV gene area (Şekil 4.2).



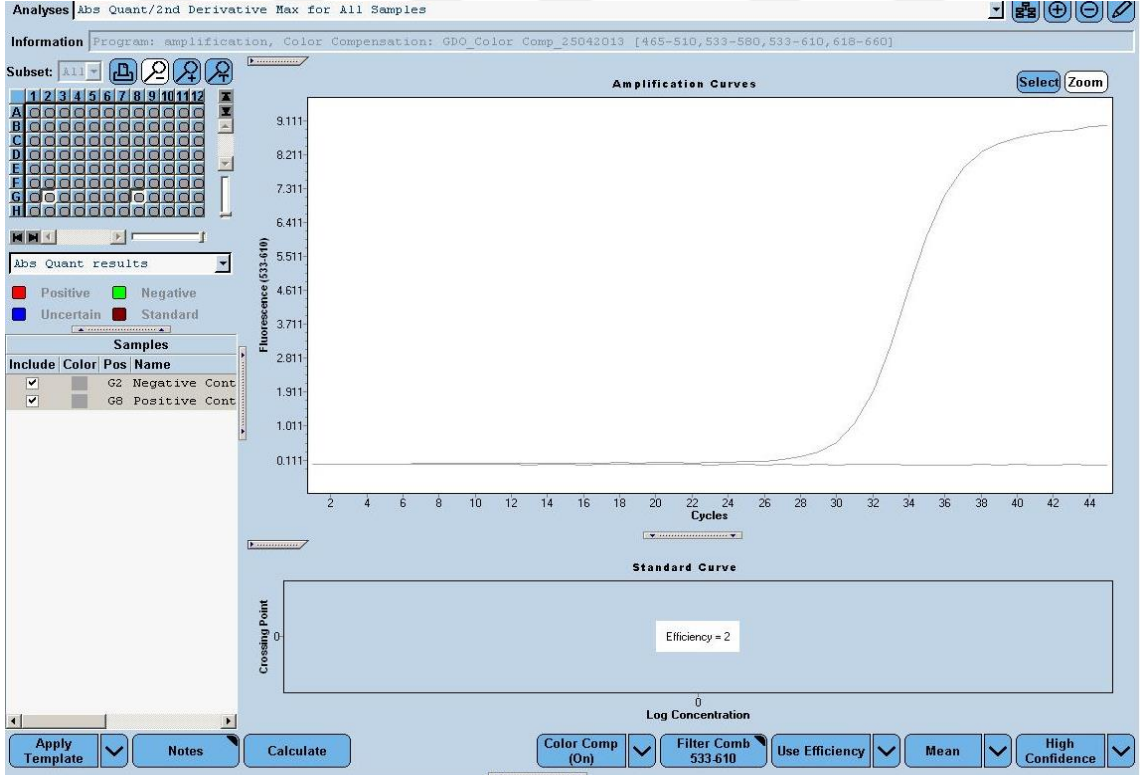
Şekil 4.1 35 S için kalite kontrol sonuçları

35 S gen bölgesi için kalite kontrol sonuçları negatif olarak bulunmuştur (şekil4.1)



Şekil 4.2 NOS için kalite kontrol sonuçları

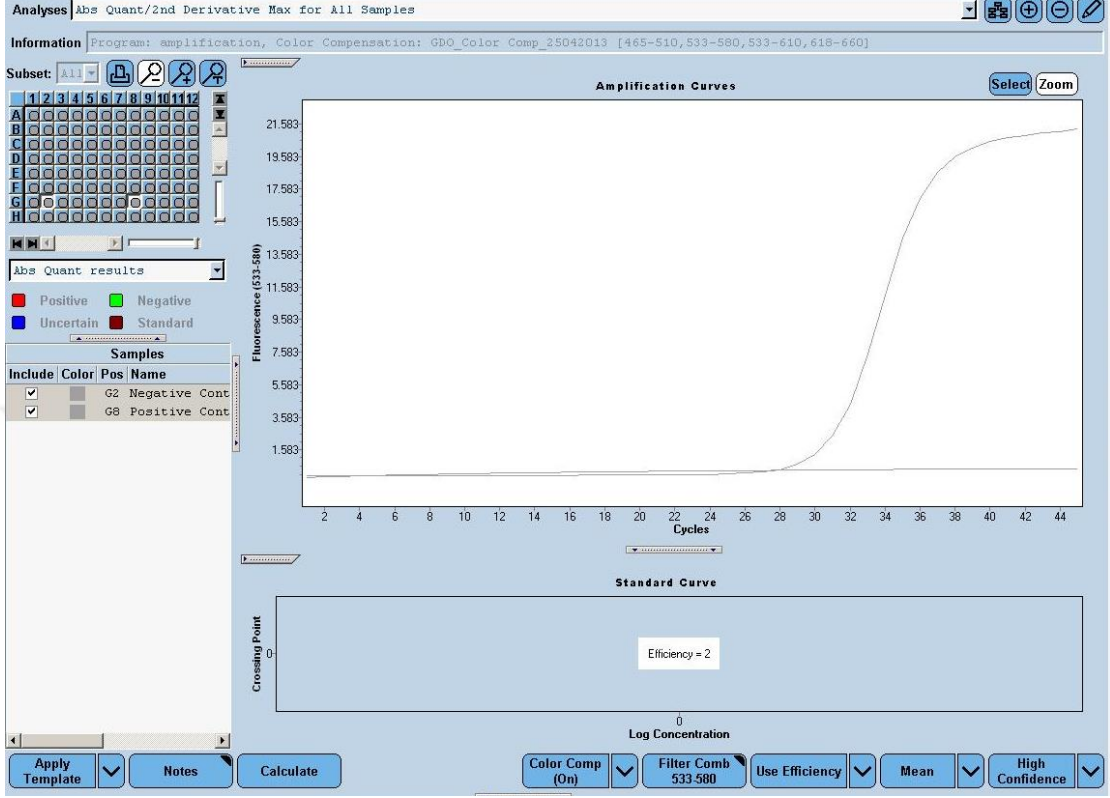
NOS gen bölgesi için kalite kontrol sonuçları negatif olarak bulunmuştur (Şekil 4.2).



Şekil 4.3. FMV için kalite kontrol sonuçları

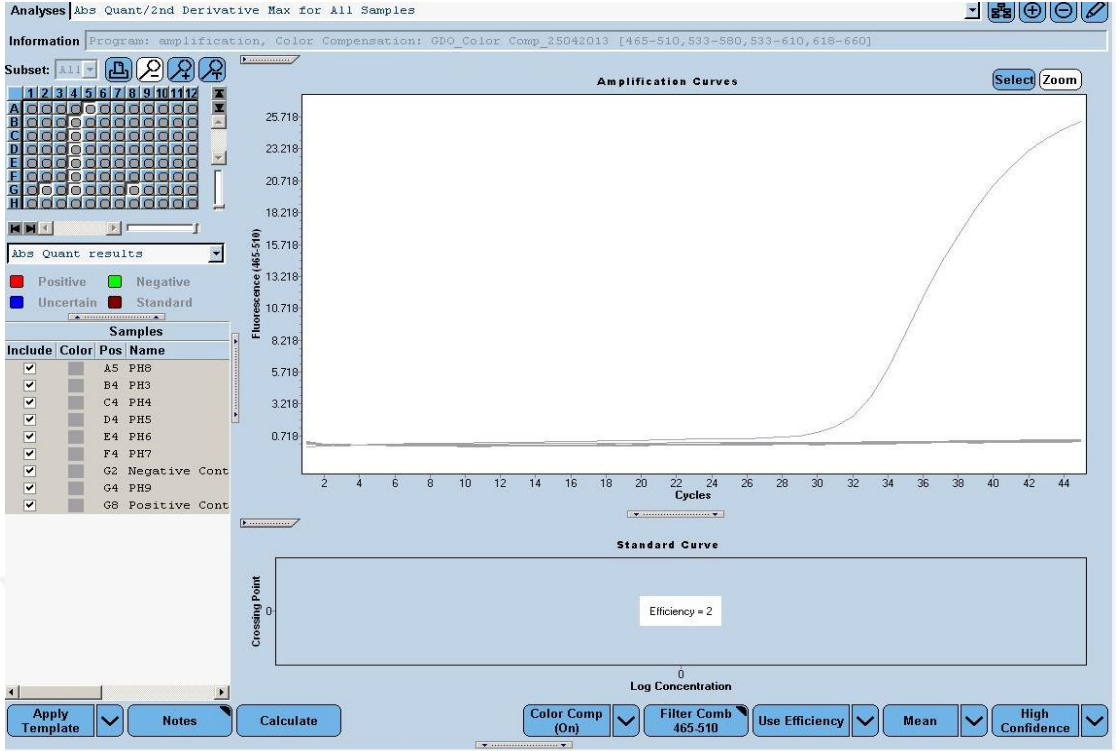
FMV gen bölgesi için kalite kontrol sonuçları negatif olarak bulunmuştur (Şekil 4.3).

İnternal Kontrol Sonuçları: IC PCR çok önemlidir. Çünkü hem PCR'ın çalıştığını hem de o örnekte DNA/RNA olup olmadığını göstermektedir. Her bir örnek için 533/580 kanalında IC kontrol sonuçları değerlendirildi (Şekil 4.4).



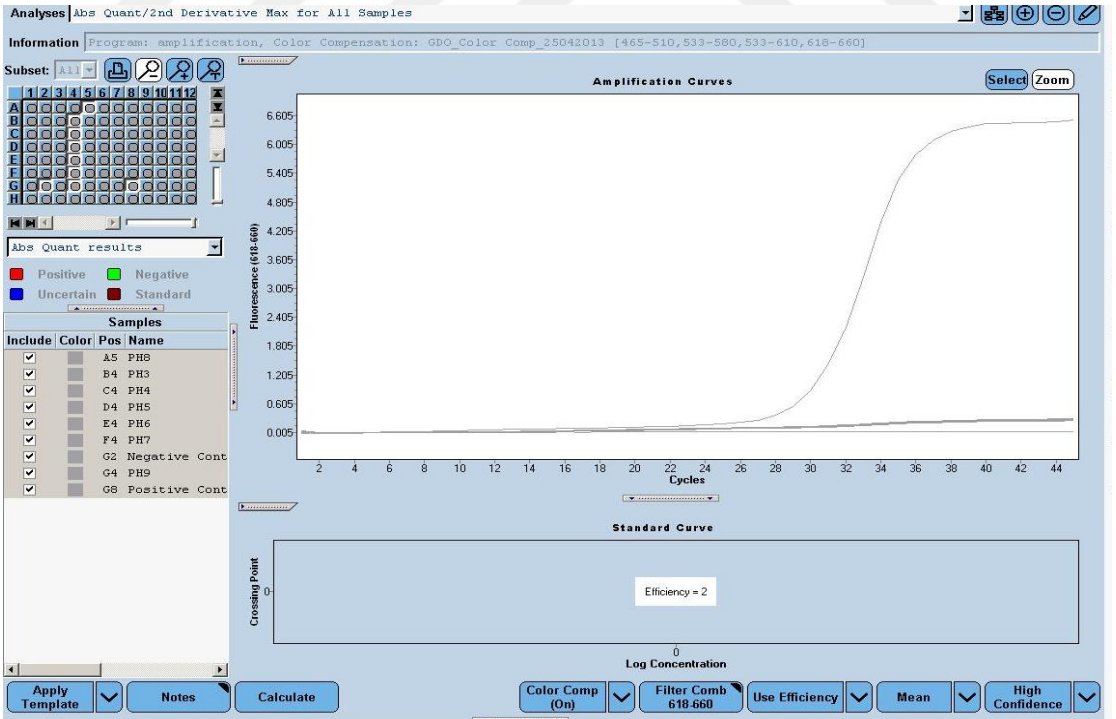
Şekil 4.4 İnternal kontrol için kalite kontrol Sonuçları

Bütün örneklerin internal kontrol sonuçları pozitif olarak saptanmıştır. Bu durum bu testlere güvenmemiz gerektiğini göstermektedir.



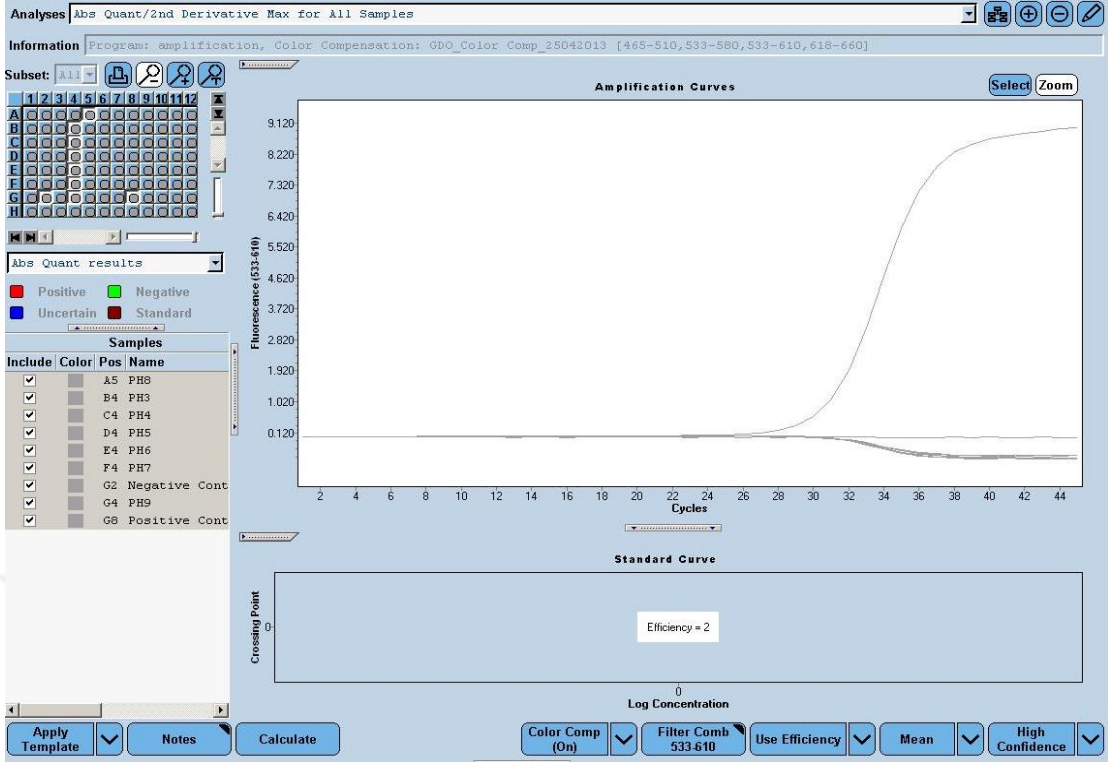
Şekil 4.5 35 S Promotor Dizi Tarama Sonuçları

35 S Promotor dizi tarama sonuçları pozitif çıkmıştır (Şekil 4.5).



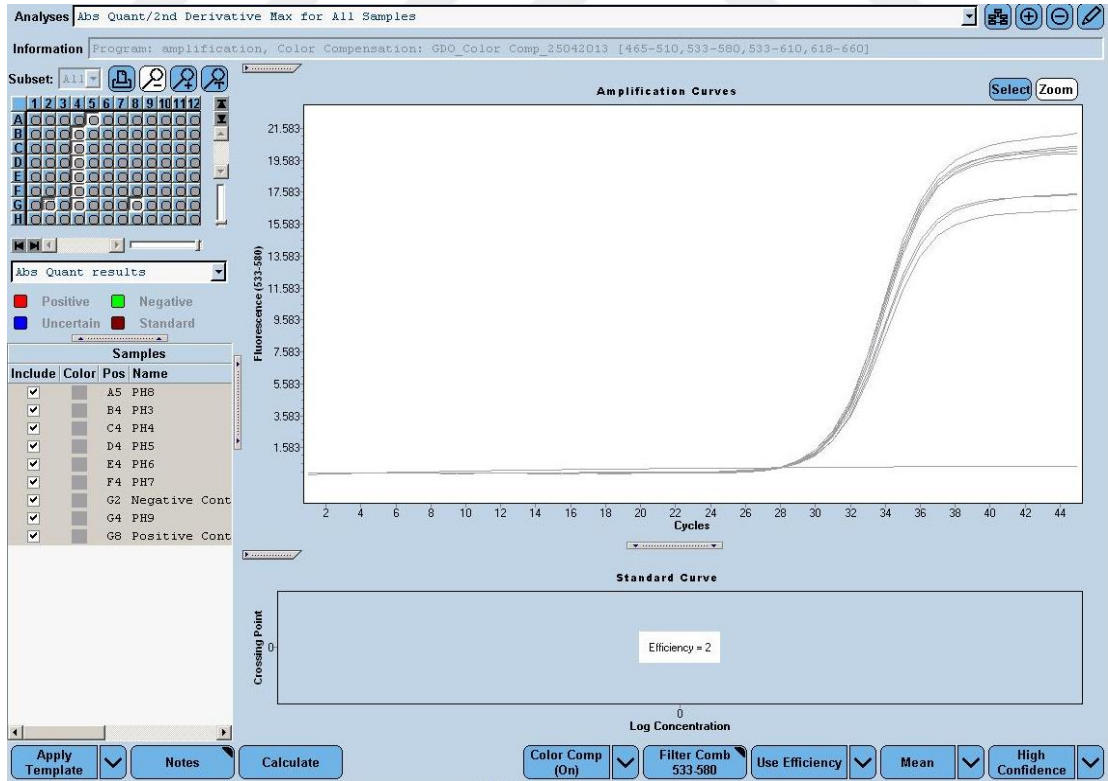
Şekil 4.6 NOS Terminator Dizi Tarama sonuçları

NOS Terminator dizi tarama sonuçları pozitif çıkmıştır (Şekil 4.6)



Şekil 4.7 FMV Promotor Dizi Tarama Sonuçları

FMV Promotor dizi tarama sonuçları pozitif çıkmıştır (Şekil 4.7).



Şekil 4.8 Bal örneklerinin IC sonuçları

Bal örneklerinin IC sonuçları pozitif çıkmıştır (Şekil 4.8).

Paketli ve paketsiz bal örneklerinin hiç birinde GDO'ya rastlanmamıştır. Testin geçerliliği kalite kontrol sonuçları ile doğrulanmıştır (Tablo 4.2 , 4.3.)

Tablo 4.2 Paketsiz bal örnekleri GDO sonuçları

Unpacked	35S	NOS	FMV	Amplification Control
Samples	465/510	618/660	533/610	533/580
Unpacked Honey 1	Negative	Negative	Negative	Positive
Unpacked Honey 2	Negative	Negative	Negative	Positive
Unpacked Honey 3	Negative	Negative	Negative	Positive
Unpacked Honey 4	Negative	Negative	Negative	Positive
Unpacked Honey 5	Negative	Negative	Negative	Positive
Unpacked Honey 6	Negative	Negative	Negative	Positive
Unpacked Honey 7	Negative	Negative	Negative	Positive
Unpacked Honey 8	Negative	Negative	Negative	Positive
Unpacked Honey 9	Negative	Negative	Negative	Positive
Unpacked Honey 10	Negative	Negative	Negative	Positive
Unpacked Honey 11	Negative	Negative	Negative	Positive
Unpacked Honey 12	Negative	Negative	Negative	Positive
Unpacked Honey 13	Negative	Negative	Negative	Positive
Unpacked Honey 14	Negative	Negative	Negative	Positive
Unpacked Honey 15	Negative	Negative	Negative	Positive
Unpacked Honey 16	Negative	Negative	Negative	Positive
Unpacked Honey 17	Negative	Negative	Negative	Positive
Unpacked Honey 18	Negative	Negative	Negative	Positive
Unpacked Honey 19	Negative	Negative	Negative	Positive
Unpacked Honey 20	Negative	Negative	Negative	Positive

Tablo 4.3 Paketli bal örnekleri GDO sonuçları

Packed	35S	NOS	FMV	Amplification Control
Samples	465/510	618/660	533/610	533/580
Packed Honey 1	Negative	Negative	Negative	Positive
Packed Honey 2	Negative	Negative	Negative	Positive
Packed Honey 3	Negative	Negative	Negative	Positive
Packed Honey 4	Negative	Negative	Negative	Positive
Packed Honey 5	Negative	Negative	Negative	Positive
Packed Honey 6	Negative	Negative	Negative	Positive
Packed Honey 7	Negative	Negative	Negative	Positive
Packed Honey 8	Negative	Negative	Negative	Positive
Packed Honey 9	Negative	Negative	Negative	Positive
Packed Honey 10	Negative	Negative	Negative	Positive
Packed Honey 11	Negative	Negative	Negative	Positive
Packed Honey 12	Negative	Negative	Negative	Positive
Packed Honey 13	Negative	Negative	Negative	Positive
Packed Honey 14	Negative	Negative	Negative	Positive
Packed Honey 15	Negative	Negative	Negative	Positive
Packed Honey 16	Negative	Negative	Negative	Positive
Packed Honey 17	Negative	Negative	Negative	Positive
Packed Honey 18	Negative	Negative	Negative	Positive
Packed Honey 19	Negative	Negative	Negative	Positive
Packed Honey 20	Negative	Negative	Negative	Positive

TARTIŞMA:

Genel olarak biyoteknoloji ve genetik mühendisliğinin gıda üretiminde kullanılması Avrupalılar tarafından “riskli” olarak tanımlanmaktadır. Biyoteknolojinin insülin üretiminde kullanılması biyoteknolojinin korkunç olarak algılanan tarafına ışık tutmaktadır; bu yüzden de biyoteknolojinin kullanımına ilişkin sakınca boyutu 90’lardaki kadar yüksek değildir. Biyoteknolojiyi kabullenmede Avrupa’daki düşük oranın, biyoteknolojiyle ilgili bilgi düzeyiyle yakından ilgisi olduğu düşünölmektedir. Aynı zamanda şu da bir gerçek ki bilim hakkında sahip olunan bilgi, tutumlara da az oranda yansımaktadır. Bu da bize gösteriyor ki insanlar ne kadar da bilgilendirilse, bunu davranışlarına, tutumlarına tam olarak yansıtmayacaklardır. (18)

1990’da yapılan bir Eurobarometer araştırmasına göre de bilgi, eğitim ve biyoteknolojiye olan bakış açısı birbirleriyle çok az ilişkilidir. Avrupalıların yanı sıra Amerikalılar da biyoteknoloji hakkında çoğunlukla kararsızlardır. Almanların GDO hakkındaki bilinçlerinin Amerikalılardan daha yüksek olduğu da saptanmıştır. Avrupalılar ve Amerikalılar arasındaki kabullenme ve bakış açısı farkı Avrupalıların gıdaların nasıl üretildiğini daha çok önemsemelerinden, Amerikalıların ise federal gıda düzenlemesi uygulamasına ve bilime daha çok güven duymalarından kaynaklanmaktadır. Bu da Avrupalıları biyoteknolojinin herhangi bir alt dalına karşı daha şüpheli yapmaktadır. Avrupa’nın çoğunluğu genetiği değiştirilmiş gıdaları, yararlarının yeterli olmayışı nedeniyle kabullenmekte zorlanmaktadır. Buna bağlı olarak biyoteknolojiye karşı geliştirilmiş negatif yaklaşımların kaynağının, bu konuyla ilgili yeterli bilgi düzeyine erişilememişliği olarak düşünölmektedir (19).

Yurt dışında yapılan bir çalışmada ABD’lilerin yarıya yakını, tarımda GDO’lu ürünleri desteklemekte, ‘geliştirilmiş gıdalar olarak değerlendirmekte, bu tür gıdaların yaygınlaşmasının tarım ilaçlarının kullanımının azalması ve beslenme kalitesinin düzelmesi şeklinde değerlendirmektedir (20.21)

Avrupa Birliği ölkelerinde, Çin ve Endonezya’da yapılan çalışmalarda ise katılımcılar arasında satın aldıkları ürünlerin GDO’lu olduğunu düşönenler %43.2 ile %62 arasında değişmektedir. Ölkemizdeki oranlar dünyada yapılan diğer çalışmalara göre yüksek bulunmuştur.

Christoph ve ark.'nın (2008) yapmış oldukları çalışmada, ülke genelindeki tüketicilerin %40'ı GDO'ların sağlık ve çevresel yararları olsa bile tüketmeyeceklerini ifade etmişlerdir. Bunun yanı sıra İngiltere, Fransa, İspanya, İtalya'daki tüketiciler GDO'lar yoluyla elde edilen ürünleri kullanmayacağını belirtmişlerdir (22).

Tayvan'da yapılan bir araştırmaya göre Tayvanlıların % 60'ı GDO içeren gıdaları güvensiz bulmaktadırlar. Ayrıca insanların bu konudaki bilgileri artsa bile bu konuda daha iyimser olmadıkları görülmektedir. Bu durumun nedenlerinden birincisi; daha fazla bilgiye sahip oldukça daha kritik ve eleştirel sorular sorup daha şüpheli olmaya başlamalarıdır (18).

Yapılan çalışmalar GDO'lu yemlerle beslenen hayvanların süt ve etlerinde GDO'lu DNA parçaları bulunduğunu ortaya koymuştur. Örneğin Agodi et al. (2006) GDO'lu mısır ve soyayla beslenen hayvanların sütlerinde GDO'lu DNA parçalarına rastlamış; Mazza et al. (2005) ise GDO'lu mısırla beslenen hayvanların dokularında GDO'lu DNA'lar saptamıştır(16). Bizim çalışmamızda incelenen bal örneklerinde GDO varlığına rastlanmamıştır. Bu durum umut verici olarak nitelendirilmektedir.

Kılıç ve Akay tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise ,Wistar albino ratlar üç (3) nesil boyunca GDO' lu (Bt transgen içeren) mısır ile beslenmiş, sonuçta nesiller arasında doğum sayısı ve doğumsonrası canlı kalma oranlarında değişiklik gözlenmediği rapor edilmiştir.

Yapılan çalışmalarda GDO'lu ürünlerin kısırılık ve sakat doğum riskini artırdığına yönelik bulgular elde edilmiştir. Bu alanda Avrupa Gıda Güvenliği Kurumu tarafından 2007 yılında gerçekleştirilen araştırmada, GDO'lu soya ile beslenen dişi farelerden doğan bebek farelerin diğerlerine göre daha küçük oldukları ve büyük bir kısmının üç hafta içerisinde öldükleri tespit edilmiştir.

İskoçya Rowett Enstitüsü'nden Dr. Arpad Rusztai'nin GDO'lu patates ile beslediği farelerin tümünün iç organlarında küçülme, sindirim sistemlerinde bozukluk, bağışıklık sistemlerinde çökme, kan yapılarında bozulma ve mide çeperlerinde kalınlaşma görülmüştür.

McClusky ve ark. (2003) tarafından Japonya’da yapılan çalışmada tüketicilerin genetiği değiştirilmiş ürünlere karşı tutumları incelenmiştir. Tüketiciler fiyatı düşük olduğunda bu ürünleri kullanmayı tercih edeceklerini belirtirken, eğitim seviyesi, gelir seviyesi ve konu hakkındaki bilgi düzeyleri en önemli değişkenler olarak tespit edilmiştir.

Van Den Bergh ve Holley (2001), tarımda kullanılan transgenetik organizmaların avantajlı ve dezavantajlı yanlarını belirten bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada tarımda kullanılan transgenetik organizmaların çevre, insan sağlığı, ekonomik karlılık, nüfus artışı ve gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelere etkileri tartışılmıştır.

Permingeat ve ark. 2002 yılında yaptıkları çalışmada CryI(b) ve Pat genlerini aynı anda event176, MON810, Bt11 ve T25 transgenetik mısırlarda belirlemek için çoklu PCR yöntemi geliştirmişlerdir. Araştırmacılar Roundup Ready soyayı bilinen primerler kullanarak çoklu PCR’la ta olarak tayin etmişler ve aynı anda Nos ve EPSPS sekanslarının çoğalan fragmentlerini saptamışlardır.

Wang ve Fang 2005 yılında genetiği değiştirilmiş soyları çoklu PCR yaparak kalitatif olarak belirlemeyi hedeflemişlerdir. Araştırmacılar çalışmada 35Sp (cauliflower mosaic virüs 35S promotör), nosT (Agrobacterium tumefaciens nopaline synthase terminatör), 35SP/CTP (Petunia hybrida EPSPS chloroplast transit peptide) ve Lec (lektin) primerleri olmak üzere 4 primer kullanmışlardır. Marketlerden toplanan 21 soya örneğinin 14’ünün transgenetik olduğu çoklu PCR yapılarak belirlenmiştir. Yapılan çalışmada çoklu PCR yönteminin soyada transgenetik yiyeceklerin belirlenmesinde etkili ve hızlı bir yöntem olduğu gösterilmiştir.

Greiner ve ark. ise 2005 yılında yaptıkları çalışmada kalitatif ve kantitatif PCR’ a dayalı metodu, Brezilya’da satılan işlenmiş yiyeceklerdeki transgenetik mısır ve soyaı belirlemede kullanmışlardır. 2000 yılında mısır içeren 100 yiyecek ve soya içeren 100 yiyecek analiz edilmiş, ertesi yıl 2001 e ise analizler tekrar edilmiştir. Sonuçlara göre; 2000 yılında soyalı ürünlerin %13’ünde ve mısırlı ürünlerin %8’inde GDO varlığına rastlanmıştır.

Ürünlerin 5'inin %4'ten az GDO'lu soya içermekte iken, 8'inin %4'ten fazla GDO'lu soya içermekte olduğu görülmüştür. Mısırlı ürünlerin 5 tanesinde GDO'lu mısır oranı %4'ten az 3'ünde %4'ten fazla bulunmuştur. 2001 yılında ise soya içeren yiyeceklerde GDO'lu soya oranı %21, mısır içeren yiyeceklerde ise GDO'lu mısır oranı %9 oranında bulunmuştur. Soya içeren 8 üründe GDO'lu soya %4'ten az, 13'ünde %4'ten fazla olduğu görülmüştür.



BEŞİNCİ BÖLÜM

SONUÇ

SONUÇ

Dünyada genetik yapısı değiştirilmiş canlıların ve bunlardan elde edilen gıdaların dağılımı hızla artmaktadır. Biyoteknolojik ürünlerin önümüzdeki yıllarda tarımsal üretim yanında tüm yaşantımızda önemli bir yer tutacağı görülmektedir. GDO' lar hakkında devam eden çalışmalara rağmen yeterince deneysel bulgu olmadığından yararları veya zararları konusunda kesin bir yargıya varmanın şu an için mümkün olmadığı düşünülmektedir. Bu bağlamda, çevremize ve gelecek nesillere olabilecek etkilerinin ve risklerin en aza indirilmesi için gerekli önlemler zaman geçirilmeden alınmalıdır.

Yapılan anketler, tüketicinin alacağı ürünün “GDO’ lu” olup olmadığını bilmek istediğini göstermektedir. Bu nedenle tüketicinin tercihinine göre seçim yapabilmesi için ürünlerin “GDO’ lu” etiketi taşımasının ve bu konudaki yasal düzenlemelerinin ivedilikle tamamlanmasının yanı sıra GDO konusunda halkın bilinçlendirilmesi ve bu konudaki eğitime önem verilmesinin son derece önemli olduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Kuiper, H.A. , et al. , Concluding Remarks, Food and Chemical Toxicology, 42, 1195-1202,2004.
2. Çelik V. , Turgut D. Genetik Modifiye Organizmalar, “Avrupa Ülkelerine Yaş Meyve Sebze İhracatının Araştırılması Projesi” Çalışma Grubu, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 23 (1-2) 13 - 23 (2007)
3. Batalion N (2000): 50 Harmful Effects of Genetically Modified Foods. Americans for Safe Food, Oneonta, NY.
4. Batalion N (2000): 50 Harmful Effects of Genetically Modified Foods. Americans for Safe Food, Oneonta, NY.
5. Kulaç I. , Ağirdil Y. Yakın M. [The Sweet Trouble on Our Tables, Genetically Modified Organisms and Their Effects on Public Health Türk Biyokimya Dergisi [Turkish Journal of Biochemistry–Turk J Biochem] 2006; 31 (3) ; 151–155.
6. Karalti, I. Candida ve Aspergillus enfeksiyonlarının realtime pcr yöntemi ile hızlı tanısının kültür yöntemi ile karşılaştırılması ve antifungal direncin kolorimetrik yöntemle tayini, Marmara Üniversitesi FBE Doktora Tezi, 2011. Sayfa 1-101.
7. Reference: SureFood® GMO SCREEN 4plex 35S/NOS/FMV/IAC Kit Insert.
8. Reference: High Pure PCR Template Preparation Kit, 2016.
9. Kılıç, A.&Akay, M. T. 2008. A three generation study with genetically modified Bt corn in rats: Biochemical and histopathological investigation. Food and Chemical Toxicology, 46 (3), 1164-1170.
10. İnce H. Ö. , Bahadıroğlu C. , Toroğlu S. , Bozdoğan H. Genetiği Değiştirilmiş Mısır Bitkisinin Zararlı Lepidopterlere Karşı Direnci Üzerine Değerlendirmeler Ana sayfa Cilt 2, Say 1 (2013) Brooks E. BST and Love Foods Battle for Headlines. Food Technol.1994; 98: 34.
11. Kaya E. , Gürbüz E. , Derman M. Üniversite Öğrencilerinin Genetiği Değiştirilmiş

12. Kaya E. , Gürbüz E. , Derman M. Üniversite ğrencilerinin Genetiği Değiştirilmiş Gıda rnlerine Bakışı Iğdir ni. Fen Bilimleri Enst. Der. / Iğdir Univ. J. Inst. Sci. & Tech. 2(3): 55-60, 2012
13. Kefi S. Genetik Olarak Değiştirilmiş Organizmaların (GDO'ların) Dünyada 2002 Yılı İtibariyle Mevcut Durumu, Ortak Tarım Politikası. 7. Dönem AB Uzmanlık Kursu, Ankara Üniversitesi Avrupa Toplulukları Araştırma ve Uygulama Merkezi, 2002; 16.
14. Kaynar P. Genetik Olarak Değiştirilmiş Organizmaların (GDO) Avrupa Birliği'ndeki ve Türkiye'deki Mevcut Durumu, Gıda. 39. Dönem AB Temel Eğitim Kursu, Ankara Üniversitesi Avrupa Toplulukları Araştırma ve Uygulama Merkezi, 2007:40
15. Anonymouse. Life Sciences and Biotechnology-A Strategy for Europe. Brussels: Comission of The European Communities, 2002; 27-35.
16. Hanoğlu H. Organik Tarım Mevzuatına Göre Türkiye'de Büyükbaş Ve Küçükbaş Hayvan Yetiştiriciliği 'Tarım Ekonomisi Dergisi' 2013; 19(1): 27-34
17. Haspolat I. Genetiği değiştirilmiş organizmalar ve biyogüvenlik Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg, 59, 75-80, 2012
18. James, C. 2004. Global Status of Commercialised Biotech/GM Crops, ISAAA Briefs, The International Service for the Acquisition of Agribiotech Applications, Ithaca, New York. Sinemus, K. , Egelhofer, M., Transparent communication strategy on GMOs: Will it change publicopinion?, Biotechnology Journal, 2007, 1141-1146
19. zdemir O, Duran M. Biyoteknolojik uygulamalara ve genetiği değiştirilmiş organizmalara ilişkin tketiciler davranışları. Akademik Gıda 2010;8(5):20-28.
20. Chern WS, Rickertsen KA. Comparative analysis of consumer acceptance of GM foods in Norway and the USA. In Consumer Acceptance of Genetically Modified Foods, Edited by R.E. Evenson and V. Santaniello, Cabi Publishing, Cambrige, USA, 2004.
21. Ergin I, Taner Gürsoy ř, Öcek Z.A. ve ark. Sağlık meslek yüksekokulu ğrencilerinin genetiği değiştirilmiş organizmalara dair bilgi tutum ve davranışları. TAF Preventive Medicine Bulletin 2008;7(6):503-508

22. Demir A, Pala A. Genetiği Değiştirilmiş Organizmalara Toplumun Bakış Açısı. Hayvansal Üretim, 2007; 48 (1): 33-43.
23. Tüysüzöğlü, B.B, et al. , Türkiye’de GDO, Bilim ve Teknik, 443, 36-43, 2004.
24. Kuiper, H.A. , et al. , Concluding Remarks, Food and Chemical Toxicology, 42, 1195-1202,2004.
25. Çelik V. , Turgut D. Genetik Modifiye Organizmalar, “Avrupa Ülkelerine Yaş Meyve Sebze İhracatının Araştırılması Projesi” Çalışma Grubu, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 23 (1-2) 13 - 23 (2007)
26. Batalion N (2000): 50 Harmful Effects of Genetically Modified Foods. Americans for Safe Food, Oneonta, NY.
27. Kulaç I. , Ağirdil Y. Yakın M. [The Sweet Trouble on Our Tables, Genetically Modified Organisms and Their Effects on Public Health Türk Biyokimya Dergisi [Turkish Journal of Biochemistry–Turk J Biochem] 2006; 31 (3) ; 151–155.
28. Karalti, I. Candida ve Aspergillus enfeksiyonlarının realtime pcr yöntemi ile hızlı tanısının kültür yöntemi ile karşılaştırılması ve antifungal direncin kolorimetrik yöntemle tayini, Marmara Üniversitesi FBE Doktora Tezi, 2011. Sayfa 1-101.
29. Reference: SureFood® GMO SCREEN 4plex 35S/NOS/FMV/IAC Kit Insert.
30. Reference: High Pure PCR Template Preparation Kit, 2016.
31. Kılıç, A.&Akay, M. T. 2008. A three generation study with genetically modified Bt corn in rats: Biochemical and histopathological investigation. Food and Chemical Toxicology, 46 (3), 1164-1170.
32. İnce H. Ö. , Bahadıroğlu C. , Toroğlu S. , Bozdoğan H. Genetiği Değiştirilmiş Mısır Bitkisinin Zararlı Lepidopterlere Karşı Direnci Üzerine Değerlendirmeler Ana sayfa Cilt 2, Sayı 1 (2013)



YEDITEPE UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES
DEPARTMENT OF NUTRITION AND DIETETICS

**A RESEARCH ON THE PRESENCE OF
GENETICALLY MODIFIED ORGANISMS IN HONEY**

MASTER THESIS

Meral AYDENİZ

ADVISOR

Assist.Prof.Dr.İskender KARALTI

ISTANBUL, 2015

ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to express my gratitude to Prof.Dr. B. Serdar ÖZTEZCAN, the head of our department, and especially my dear advisor Assist. Prof.Dr.İskender KARALTI for their attention, advise, knowledge, assistance, patience and support throughout the study starting from the determination of the research subject; my dear parents, Elips Sağlık Ürünleri, and contributions throughout the study.

Meral AYDENİZ



ABSTRACT

Gen derived from the Greek word that comes from Genos meaning from the beginning. Genes are the units that encode the characteristics of living thing from generation to generation is located within the DNA helix genes that determine life (size, color, disease resistance such as high efficiency). It has been discussed for a long time that possible negative effects of GMO products on human health and the environment, obtained new properties that was impossible to get through natural processes used by gene technology and enabled to transfer a gene from one species to another species or to intervene in the present genetic structure. Since the launch in 1996 various discussions are continuing on the production and placing on the market. Worldwide increased acreage would be used widely in the future of genetically modified crops is very interesting and if this situation. Genetically modified organisms in our country as well as over the world is also very current and new housing. Continuing the subject of health services is of great importance to know the professionals think.

Materials:

In our study, we examined for GMO in 20 packaged and 20 unpackaged honey samples. While the packaged ones were of different brands, unpackaged ones were collected as samples. The samples were collected in a sterile container and conveyed to laboratory for analysis.

Methods:

DNA isolation was carried out taking 1 each table spoon from the samples. The isolated DNA's were studied on with Roche 480 II Real time PCR device. A control test was carried out in order to evaluate the test performance.

Objective:

This study was to investigate the presence of GMOs in honey produced in our country is intended to determine if the level detected.

Key Words: Genetically Modified, GMO, honey

CONTENTS

	Page
ACKNOWLEDGEMENTS	i
ABSTRACT	ii
CONTENTS.....	iii
ABBREVIATIONS	vi
LIST OF FIGURESvii
LIST OF TABLES	viii
CHAPTER ONE - INTRODUCTION	1
CHAPTER TWO – GENERAL INFORMATION.....	2
2.1 What is Genetically Modified Organism?.....	2
2.2 History.....	2
2.3 GMO’s Area of Use	3
2.3.1 Using Biotechnology in Plants	4
2.3.2 Using Biotechnology on Animal Production	4
2.4 Situation in the World	5
2.5 Situation in Turkey.....	5
2.6 Impacts of Genetically Modified Foods on Human Health	6
2.6.1 Positive Impacts	6
2.6.1.1 Increasing Nutritional Values	6
2.6.1.2 Increase in Food Productivity and Adequate Nourishment.....	6
2.6.1.3 Edible Vaccine Production	7
2.6.1.4 Treatment of Human Diseases.....	7
2.6.2 Negative Effects	8
2.6.2.1 Resistance Against Antibiotics	8
2.6.2.2 Allergic Effects.....	8

2.6.2.3 Toxic Effects.....	8
2.6.2.4 Carcinogenic Effects.....	9
2.7 Socio-economic Dimension of GMO's.....	9
2.8 Gene Transfer Methods.....	10
2.8.1 Gene Transfer Through Agrobacterium.....	10
2.8.2 Direct Gene Transfer Methods.....	11
2.8.2.1 Gene Transfer Through Electroporation and PEG.....	11
2.8.2.2 Biolistic.....	12
2.8.2.3 Microinjection.....	12
2.8.2.4 Sonication.....	12
2.8.2.5 Desiccation.....	12
2.8.2.6 Transfer through Laser Micro Rays.....	12
2.8.2.7 Transfer Through Fibres.....	12
2.8.2.8 Transfer through Pollen Tube.....	12
2.8.2.9 Gene Transfer through Liposomes.....	13
2.9 Legal Dimension of GMO's for the Countries in the World.....	13
2.10 Legal Dimension of GMO's for the European Union.....	14
2.11 GMO Case in Turkey and Legal Arrangements.....	15
CHAPTER THREE – MATERIAL AND METHOD	17
3.1 Material.....	17
3.2 Method.....	17
3.2.1 Nucleic Acid Isolation.....	17
3.2.2 PCR.....	18
3.2.2.1. Nucleic Acid Multiplication Methods.....	18
3.2.2.2. Polymerase Chain Reaction (PCR).....	19
3.2.2.3. Polymerase Chain Reaction Types.....	20
3.2.2.4. Real Time PCR.....	21
3.2.2.5. GDO PCR.....	22
CHAPTER FOUR – RESULTS AND DISCUSSION	26

4.1 Quality Control Results.....	26
4.2 Discussion	26
CHAPTER FIVE - CONCLUSION	36
RESOURCES	37



ABBREVIATIONS

EFSA : The UN Commission and European Food Safety Authority

rSBH : Recombinant Cattle Growth Hormone

WHO : World Health Organisation

FAO : Food and Agriculture Organisation

EPA : Environmental Protection Agency

AMA: American Medicine Association

FDA : Food and Drug Association

GMO : Genetically Modified Organism



LIST OF FIGURES

	Page
Figure 3.1 Schematic Levels of a Cycle in a Polymerase Chain Reaction.....	18
Figure 3.2 Real Time PCR Image Shot During Working.....	20
Figure 3.3 Roche TheLightCycler® 480 System Machine	21
Figure 3.4 Roche TheLightCycler® 480 System Screen.....	23
Figure 3.5 RocheTheLightCycler® 480 SystemScreen.....	25
Figure 4.1 Quality control results for 35 S	26
Figure 4.2 Quality Control Results for NOS	27
Figure 4.3 Quality Control Results for FMV.....	27
Figure 4.4 Quality Control Results for Internal Control.....	28
Figure 4.5 35S Promotor sequence scanning results	29
Figure 4.6 NOS terminator sequence scanning results	29
Figure 4.7 FMV promotor sequence scanning results	30
Figure 4.8 IC results of Honey products.....	30

LIST OF TABLES

	Page
Table 3.1 PCR Mix Preparation.....	24
Table 3.2 PCR Conditions	24
Table 4.1 Interpretation of results.....	26
Table 4.2 Results of unpacked GMO honey samples.....	31
Table 4.3 Results of packed GMO honey samples.....	31



CHAPTER ONE

INTRODUCTION

According to the World Health Organisation, issues such as cultivation even in unfavourable weather conditions, a decrease in agricultural pesticides, an increase in productivity, nutritional values and shelf life have come to the agenda due to the food production required with the population growth in the world. It is argued that it is possible through changing production type in order to resolve the famine issue in the world (1).

Nowadays, not only the benefits, but also the harms or risks of GMO's are discussed. The famine issue is predicted to reach a more dangerous dimension in near future due to various reasons such as the rapid increase in population, decrease in cultivatable agricultural areas, erosions, food wastage, inadequacy of current production technology and irrigation, and sea pollution (1).

CHAPTER TWO

GENERAL INFORMATION

2.1 What is Genetically Modified Organism?

Genetically modified organisms (GMO) are organisms acquired through adding new features to or changing the existing ones of living things via making changes in their gene sequences with biotechnological methods. Recently, the use of genetically modified organisms through biotechnology and biotechnological methods is among the most topical issues in the world (6).

Genetically modified organisms are also called Genetic structurally modified organisms, Modified Living Organisms, Genetically Modified Crops (2).

2.2 History

Used by Karl Ereky in 1919 for the very first time in the history, the term “biotechnology” has undergone considerable changes as a consequence of the application of modern techniques, whose then definition, concept and scope have developed until today, to the particular field (1).

Rapidly developing and providing many benefits in the last 10-15 years, biotechnology was defined as “a technology applied to the process in which fundamental sciences and engineering principles are used to turn raw materials into products via biological instruments” in the OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) report in 1982 (1).

As the most significant consequence and one of the most debated issues in recent years, genetically modified organisms (GMO) are still the main topic of the world’s agenda (1).

The history of biotechnology can be ordered as crop taming (B.C. 10000), animal domestication (B.C. 8000-9000), beer fermentation (B.C. 6000), making yeast cake (B.C. 4000), vaccine production (~1880), antibiotic production (~1940), high productive crop production “Green Revolution” (~1960) and production of genetically modified plants - “Biotechnology Revolution” (~1990) (1).

There are many GMO products in the world, especially corn, potato, tomato, rice, wheat, pumpkin, zucchini, sunflower, peanut, some fish species, colza, cassava and papaya. Furthermore, studies continue on products such as banana, raspberry, strawberry, cherry, pineapple, pepper, melon, watermelon and canola (1). Studies are conducted in order to resolve health problems of people through increasing nutritional amounts and enriching contents (1).

2.3 GMO's' Area of Use

It has been determined that approximately three million children have visual disorders in their pre-school period due to vitamin A deficiency, 250.000 – 500.000 of whom go blind and two third of them die in a few months. 14 million children face up with an untreatable eye disorder due to vitamin A deficiency. Moreover, 30% of the world's population have iron deficiency, which leads to problems such as a decrease in learning capabilities and an increase in infections (2). A type of rice rich in vitamin A, Golden Rice was produced through biotechnological studies in order to enrich its nutritional values (1). Iron rate was doubled in another type of rice as well (2). Therefore, it was aimed to prevent vitamin A deficiency in regions where rice is the basic consumption good (1).

It was aimed to decrease the rate of certain cancers and other chronic diseases existing in society, through increasing the antioxidant level in food products. A substantial antioxidant, lycopene can be found largely in genetically modified tomato, tomato products and pepper. Cholesterol rate can be controlled through increasing unsaturated fat rate in genetically modified soya and colza types, as unsaturated fat rate causes high levels of cholesterol in humans. A healthy nutrition requires a diet containing low levels of saturated fat rate and higher levels of unsaturated fat rate. Additionally, starch-rich potato types, wheat types with increased gluten and bread quality, and grain types with increased amino acid rates are produced (12). Furthermore, fish secretes more growth hormone and therefore the meat productivity increases through transgenic methods (2).

2.3.1 Using Biotechnology in Plants

Defined as genetically modified plants, transgenic plants have gene combinations which are not expected to form under regular conditions. Therefore, GMO's can contain genes transferred from viruses, bacteria, animals and plants. Gene transfer is carried out in transgenic plants in order for purposes such as fighting pests, changing the flavour and look of a product and increasing nutritional values and suitability for transportation and storing (8). For instance, genetically modified cold resistant tomatoes and strawberries were produced through transferring an antifreeze gene from a fish species living in the poles to the particular vegetables (6). Another instance is the use of *Bacillus thuringiensis* (B.t) gene in corn and other products. Typically found in nature, *B.t.* is a bacteria producing lethal protein for insect larva. The gene coding this protein is transferred to corn so that it can produce its own pesticides against insects (9,6).

2.3.2 Using Biotechnology on Animal Production

Biotechnology use in animal production focuses on the isolation and characterisation of growth hormone genes of various animals. It was observed in a study that the productivity of honey cows increased and a fast growth took place through using forage efficiently when the "Bovine Somatotropin" (BST) hormone was injected to cows. Similarly, carcass composition fat amount decreased and protein amount increased with "Porcine Somatotropin" use (10,6). BST use was approved by the Food and Drug Administration in the USA; FDA). Additionally, honey of cows on which recombinant BST is applied must be labelled in the USA.

On the other hand, there are still concerns about that there is no difference between such honey and regular one and no labelling will not be a must due to the fact that there is no differentiating methods, antibiotics which are used in infection treatments can contaminate the milk and mastitis is likely to develop in cows on which BST is applied (11,6).

2.4 Situation in the World

With the gradual interest in GMO's and products acquired through them, the agricultural cultivation of such products have indicated a great increase worldwide reaching approximately 125 million hectares since the early 1990's (2). GMO's are cultivated in the (57.7%), Argentina (19.1%) Brazil (15%), India (6.2%), China (3.8%), Paraguay (2.6%) and South Africa (1.8%). Most of the GMO's produced in the world are agricultural drugs and resistant soya (51%), corn (31%), cotton (13%) and canola (5%) developed against pesticides (3).

2.5 Situation in Turkey

While consumers in Turkey did not have much information about GMO products until today, some organizations, farmers and voluntary establishments have started to draw attention to GMO products through universities, and various instruments of local and national press. Therefore, millions of people in our country ranging from producers to consumers have the opportunity to learn about the GMO concept in terms of both environmental, ecological and health risks, and positive effects (2).

Biotechnological studies in Turkey are conducted both within the body of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs and Middle East Technical University. While studies are not advanced enough to commence a mass production of GMO products, there is no law related to GMO's in Turkey yet. However, Turkey signed Cartagena Protocol and applied its requirements Furthermore, apparently no adequate control and supervision is at hand (2). It is still not possible to mention a great progress in regulation works in terms of GMO's. The Regulation on the Importation, Processing, Exportation, Controlling and Supervision of Genetically Modified Organisms as Food and Forage" published in 26.10.2009 dated and 27388 numbered Official Gazette prepared in order to determine the rules about making decisions about, processing, importing, exporting, monitoring, reserving, controlling and supervising GMO foods and forages was carried into force by the Ministry of Agriculture and Rural Affairs (23).

2.6 Impacts of Genetically Modified Foods on Human Health

2.6.1 Positive Impacts

2.6.1.1 Increasing Nutritional Values

Food productivity and quality can be increased through agricultural biotechnology applications. An increase in food quality means an increase in flavour, structure, appearance and nutritional values of a product. For instance, it is acknowledged that an increase in dry matter rate in tomato and unsaturated fat rate in soya is beneficial in terms of health. Increasing nutritional values is an important application in terms of human nourishment and health maintenance. Scientists are able to produce rice rich in vitamin A or iron (4).

A harmful chemical reaction and the reason of the development of some cancers, heart disease and blindness, and compounds slowing down or preventing biologic oxidation, antioxidant vitamins and minerals can be increased in amount products through gene transfer technology. For instance, vitamin C is important in terms of human nourishment and it can be increased in strawberries produced through genetic modification technology (4).

2.6.1.2 Increase in Food Productivity and Adequate Nourishment

There are still countries in which deaths occur due to inadequate nourishment and famine. The rapid increase in world population leads to both a concern about meeting the food need and a decrease in the number of fresh water resources to be used in agricultural production along with the fact that it is impossible to expand cultivatable areas. Genetically modified products are regarded as a solution as production acquired from unit area should be increased in order to provide enough food for the population. Both disinfection costs decrease and a productive increase is sought in products with transferred genes resistant against diseases and pesticides (2).

2.6.1.3 Edible Vaccine Production

Many people lose their lives or become permanently disabled due to preventable health problems in the world. Inoculation is the thought to be the most effective method in the prevention of many such diseases, however most people cannot benefit from vaccines due to many reasons such as the expensiveness, difficulties in transportation and application methods, trained personnel requirement and sociocultural structure of people. Plants to be produced are sought to be used as vaccine with the acquisition of some plants synthesizing various proteins through genes to be transferred to such plants. For instance, many genetically modified fruits and vegetables are used against diseases such as Hepatitis B, diarrhoea, cholera, measles and many more (2).

Groups supporting genetically modified organisms argue the particular technology enables an increase in food quality and health benefits, in vegetable and animal food productivity, a bettering in shelf lives and organoleptic quality of fruits and vegetables, edible vaccine and medicine production, treatment in human diseases and organ transplantation and many environmental benefits. According to critics, changes in food quality lead to problems in food security, allergic reactions and crucial risks due to their potential toxic effects, vulnerability of genetically modified products, and various environmental and other groups do or will have religious, cultural and ethical problems regarding the issue (24).

2.6.1.4 Treatment of Human Diseases

Nutritional enhancement has a positive influence on human health. Moreover, a decrease in the requirement of pesticides and herbicides in production leads to food safety, human health, allergies and sensitivities. Soya which contains ovoconin having an antihypertensive effect and lactose-less milk produced for individuals who are intolerant to lactose are good examples. Genetically modified potatoes are produced in order to prevent cholera and diarrhoea.

Vaccine production is carried out taking many diseases from cholera to AIDS into consideration, and these developments save lives through having a positive influence on human health (2).

2.6.2 Negative Effects

2.6.2.1 Resistance Against Antibiotics

Effects of GMO products on our health are not crystal clear yet. When a foreign genetic material is given to other living things, such genes are likely to incorporate with surrounding disease-causing bacteria or microorganisms, or with germs in the intestine of animals or humans consuming such genes. Therefore, it might lead to negative consequences in terms of health in case antibiotic-resistant bacteria forms (2).

Used as a marker gene during GMO production, antibiotic resistance genes are usually bacteria-rooted, which is the most debated possibility (25). Already a common fact in nature, resistance to antibiotics might increase with the transfer of antibiotic resistance genes into human intestine microflora or pathogenic microorganisms through the consumption of GMO products (27, 25). This might be risky in terms of human and animal health through removing the therapeutic values of antibiotics in the treatment of pathogenic microorganisms (27).

2.6.2.2 Allergic Effects

Another health problem caused by genetic change technology is that it causes allergic reactions in some individuals. Related to immunity system, food allergies can be observed as swollen and itchy lips and tongues, reddened and swollen eyes, difficulty in breathing, abdominal pain in digestive system, diarrhoea, vomiting, eczema and pubescence. Allergic foods can be exemplified as milk, eggs, fish, shellfish, peanuts, soya beans and wheat. Allergic reactions are observed as a consequence of genetically modified soya and corn consumption, allergic reactions are observed in individuals allergic to nuts. As a consequence of leading to allergic reactions in some individuals due to a slower digestion because of a Bt protein found in a corn type named StarLink, the USA allows for StarLink to be produced not for human consumption (2).

2.6.2.3 Toxic Effects

Another negative reaction caused by genetically modified products is toxin production. In 1967, Lenape potato in the USA was produced with high amounts of dry matter to be used in the production of potato chips and introduced to the market;

however it was removed from the market by the American Ministry of Agriculture two years later due to the fact that it produced solanine. Moreover, 37 people died and 1000 people got sick due to Eosinophil-Myalgia Syndrome between 1988 and 1989. Researchers assume the foods containing L-Tryptophan are the reason behind.

Almost 70% of GMO products have the purpose of providing a resistance against drought and bugs. Arguing such products contain pesticides, anti-GMO's say those consuming this corn might have toxic effects (2).

2.6.2.4 Carcinogenic Effects

Recently, cancer cases rapidly increasing in number are observed in earlier ages. Therefore, carcinogenic effects of GMO products are being studied on. Genetically modified beef growth hormone (rBGH) is injected to cows in order to increase milk productivity. rBGH causes an increase in a insulin like growth hormone (IGF-I) in milk. It leads to a growth in both regular cells and cancerous ones. An increase in IGF-I level in blood might lead to lymph sarcomata, breast cancer, uterine cancer, ovarian cancer, prostate cancer, colon cancer, lung cancer and pancreatic cancer (2).

Chemical substances used in cotton, soya, corn and colza such as “broxynil” and “glufonsinate” in order to provide a resistance against herbicides are known to cause cancer (28).

2.7 Socio-economic Dimension of GMO's

Developments in biotechnology, an interdisciplinary science, are observed through an international perspective. It has been found out that it creates benefits in terms of economic growth, competition and cooperation. Accordingly, while 73% of transgenic plants are grown in developed countries, 27% are grown in developing countries such as Argentina, China, South Africa and Mexico. It was emphasized that the estimated market value of genetically modified agricultural products was 4.5 billion dollars in 2003. Therefore, genetically modified products made up 15% of the 31 billion dollar agricultural product market and 13% of the commercial seed markets. One of the major drawbacks of genetically modified products is that their license rights are reserved by a few multinational companies in the world (2).

Controversies continue on GMO production and introduction to the market. Even though the European Union frowns upon such applications as it is afraid of public reactions, the government of England has approved production in some areas. Small amounts of GMO product agriculture is carried out as test cultivations in countries such as Germany, France, Romania and Bulgaria (29).

Recently, GMO's are evaluated within license scope as both a technique and a product through giving prominence to their technique. As it is rather challenging to detect and determine a gene and it requires great investments, licenses can be acquired provided that the function is indicated according to the European License Agreement. When farmers who used licensed genetically modified seeds reused the same seeds had to pay an amount to the license holder and therefore was prohibited from keeping licensed seeds. Some farmers keeping the seeds were sued by the companies holding the license, burnt their product in order to get away with lawsuit process, paid damages to the manufacturing company and opened their bank accounts for inspection (2).

Therefore, many farmers had to buy seeds combined with terminator genes every year and became dependent upon multinational seed producing companies. This not only harmed small-scale farmers, but also hindered the traditional agriculture. Different views on GMO's are apparent among farmers as well (2).

2.8 Gene Transfer Methods

Gene transfer can be carried out through either agrobacterium bacteria or direct gene transfer method.

2.8.1 Gene Transfer Through Agrobacterium

Agrobacterium is a mobile bacillus which lives in soil and produces no negative spores. It has two sorts (*Agrobacterium tumefaciens* and *Agrobacterium rhizogenes*) used in gene transferring. Today's most common instrument used in gene transferring to plants is *A.tumefaciens* plant. It typically enters the plant through the scars developing in root throat and cause tumours as a result of irregular divisions in root throat. Once a tumour begins to form, it can be grown without a bacteria or auxiliary hormone. On the other hand, *A.rhizogenes* is sensitive to phenolic components secreted by injured plant

roots. These phenolic compounds stimulate the virulence genes in the bacteria and the plant causes hairy root disease through transferring its own DNA area to the plant genome (5).

They grow faster than typical roots and reproduce easily with no need of hormones due to the fact that they create so many growing points during development. Many cultivated plants such as tobacco, potato, canola and tomato are genetically transferrable through *A.tumefaciens*. The weak point of this method is that The Graminae is not genetically transferrable and this method fails in several plant species such as The Leguminosae. Despite the fact that the gene transferring with *A.rhizogenesis* a simple method, genes transferring through *A. tumefaciens* and physical methods have made a progress of more importance. However, *A.rhizogenes* for biological studies cannot be used effectively in hairy root production for seconder metabolite production (5).

2.8.2 Direct Gene Transfer Methods

2.8.2.1 Gene Transfer Through Electroporation and PEG

The piece of DNA carrying the desired gene is put in the cell through creating temporary pores in cell membrane with high voltage electricity (electroporation) or chemical substances (PEG: polyethylene glycol) (5).

2.8.2.2 Biolistic

Biolistic gene transfer is carried out through a piece of DNA attached to metal particles with a particle gun or a direct bombardment of phage, bacteria or ferment cells to target cells and tissues via firing mechanism (5).

2.8.2.3 Microinjection

The DNA part carrying the genes which are to be transferred is injected to target cells which are directly immobilized with very thin capillary pipettes or an injector under a microscope. It is usually used in animal cell transformations. Despite the fact that it is a conceptually simple method, its practice is difficult due to the fact that a

single cell is transferred at a single time, the application is slow and the operator's hand skills are of importance (5)

2.8.2.4 Sonication

DNA parts are made enter cells through creating gaps between cells and in cell membrane with sound waves (5).

2.8.2.5 Desiccation

It is a method enabling DNA to be received in a cell as a consequence of water intake in an environment where tissues are first faded and the DNA to be transferred are found (5).

2.8.2.6 Transfer through Laser Micro Rays

DNA parts are made enter a cell through opening micro holes in cells with UV laser micro rays (5).

2.8.2.7 Transfer Through Fibres

Silicon carbide is a solid ceramic substance and easily forms sharp sides when broke. The plant which is desired to be the target for gene transferring is transferred into a buffer containing DNA and silicon carbide fibres and mixed strongly. Fibres cause a hole in cell wall and membrane as a consequence of a collision between silicon carbide fibres and suspension cells, so DNA entrance is acquired into suspension cells. Products such as corn, tobacco, rice and wheat have been the target of gene transferring through using fibres (5).

2.8.2.8 Transfer through Pollen Tube

Transferring is carried out through the application of DNA onto the stigma surface and the passing of DNA through pollen tube and reaching to ovule. Initially, it has been used for rice, then other species such as wheat, soya and watermelon (5).

2.8.2.9 Gene Transfer through Liposomes

Gene transferring is carried out through the fusion of liposomes carrying DNA with cell membrane of plant protoplasts (5).

2.9 Legal Dimension of GMO's for the Countries in the World

Legal dimension of GMO's for the countries in the world are summarized below:

1. "Voluntary Direction on the Emission of Organism into the Nature" published by UNIDO (UN Industrial Development Organisation) Secretariat (1991)
2. "Plant Biotechnology Directive" prepared by FAO at the request of the Commission of Plant and Genetic Resources (CPGR) and published by UN Food and Agricultural Organisation in November, 1991.
3. Agenda 21 and "International Technique Directives to Prevent Biotechnological Risks" aiming to realize it (1992)
4. Especially the 8th and 19th articles if the "EU Biological Diversity Agreement" (1996)
5. "Biosecurity Guide" prepared by United nations Environmental Program (NEP) in order to serve as a guide to research the biosecurity capacity of developing countries (1997)
6. "Biological Diversity Agreement Biosecurity Protocol" prepared as a protocol under the name "Cartagena Protocol" as an addition to UN Biological Diversity Agreement (2000)

The Cartegena Protocol provided the opportunity for GMO products to be prohibited on account of health and environmental risks for importing countries despite the fact that it has no scientific evidence. Furthermore, the UN Biological Diversity Agreement and Cartagea Protocol have international binding features (1, 13, 14).

2.10 Legal Dimension of GMO's for the European Union

The European Union updated its regulation on food security in January 28, 2002 with the 178/ 2002 numbered UN regulation. It also put forward the strategies and study plans of the Europe with the report "Biology and Biotechnology" of the European Union Commission on 23.01.2002. The European Union brought its authority on food safety under the roof of the European Food Security Authority (EFSA*European Food Authority). Indeed, scientific panels were established to provide EFSA with scientific views on GMO's (15, 16).

Furthermore, the European Union member countries signed the Cartagena Protocol in 2000. The European Union published the 628/2992/EC numbered Decision on July, 2002 regarding the consequences of the Protocol on biosecurity in terms of the European Union. In parallel with the directives to the European Union member countries, GMO products were allowed to be produced and sold, however it was emphasized that GMO products should be labelled. Some rules were determined in order to protect biodiversity in the European Union. Programs for the protection of habitats and species were provided in compliance with the "Agreement on Biodiversity" within and beyond the European Union. The biodiversity protection strategy of the union was founded on combining the program "Natura 2000", creating a network tied with the European habitats, protection of the habitats and stimulation of sustainable area management applications in and around major habitats with in compliance with the 1992 regulation on habitats.

The Union prepared an action plan in order to promote biodiversity in fields such as natural resources, agriculture, fishing, development and economic cooperation; moreover it supported Bern Convention regarding the protection of the European natural life, Bonn Convention regarding the protection of migratory birds, and Rio de Janeiro Convention regarding biodiversity (Principle number 15).

The legal dimension of GMO's in Turkey started with the Helsinki Summit in 1999 when Turkey accessed to the European Union as a candidate country and the adaptation process of the regulation about GMO's commenced due to the adaptation process of Copenhagen Criteria and the European Union acquis. On May 24, 2000, turkey signed the Cartagena Protocol and it came into force on September 11, 2003. Furthermore, it became a member of UPOV (International Union of Plant Diversity) in

1961, which is an international organization founded in France and providing assistance through acquis adaptation and with the purpose of protecting international plant diversity.

2.11 GMO Case in Turkey and Legal Arrangements

The first legal arrangement in our country was the 1998 dated Directive about Field Attempts of Transgenic Cultivated Plants. The initial international enterprise was Cartagena Biosecurity Protocol approved by the government in 2004 and its definition became legalized. On March 18, 2010, Biosecurity Law came into effect. Accordingly, GMO products' use other than the defined purposes, introduction to the market or use without permission, use in baby food, baby formulas, follow-on formulas and additional baby foods were prohibited (12). In accordance with laws, the "Biosecurity Board" is founded in order to carry out the duties refined in the 9th article of the particular law and evaluate the applications about GMO products (17).

The board is responsible for creating a list of experts; founding scientific committees from those selected from the list of experts; selecting the members of scientific committees from the list of experts for every application, making board decisions through considering socio-economic evaluation reports; submission of decisions about complete or partial cancellation, prohibition, recalling, extermination and such actions based on monitoring reports, and establishing an ethic committee. The Biosecurity Law, even if permitted, holds those engaged in GMO and GMO products responsible for harms against the protection and maintenance of human, animal and plant health and biological diversity. Those violating the provisions of the law will be sentenced to imprisonment of 3 to 12 years, and imposed punitive fine of great amounts (2). In order to protect human, animal and plant health and biological diversity and nature and to prevent potential risks which might be caused by genetically modified organisms and products acquired through modern biotechnology within the framework of scientific and technological developments and the "Regulation of Genetically Modified Organisms and Products" depending on the 5977 numbered "Biosecurity Law" which came into force on 13.08.2010, purposes are stated below:

To determine the procedures and principles about,

a) Applications, evaluations, decisions, importations, processing, exportations, labelling, monitoring, introduction to the market, supervising and controlling of genetically modified organisms and such products produced as food and forage;

b) Trials of actions of development, research and scientific purposes on genetically modified organisms under controlled conditions preventing the contact with outer environment and in a limited area;

c) Research, development, application, evaluation, decision, importation, exportation, processing, labelling, introduction to the market, monitoring, supervision, controlling and closed area actions of genetically modified microorganisms.

As of 2011, October, in Turkey, in compliance with the 5977 numbered "Biosecurity Law", A2704-12 soya bean and its products containing herbicide tolerance; MON40-3-2 soya bean and its products containing herbicide tolerance gene; and MON89788 soya bean and its products containing herbicide tolerance gene have been allowed to be used only in animal forage.

Cultivation area of transgenic plants which started as 2.8 million hectares in 1996 for the very first time in the world reached 148 million hectares in 2010. It is apparent that plant biotechnology is gaining importance with each passing day. Therefore, we need to take care of its negative aspects instead of avoiding the technology.

Our country's need for a national biosecurity policy with agriculture, environment and technology policies are evaluated in an integrated manner. Therefore, bringing Biosecurity Law into action aims at the foundation and application of biosecurity system in order for human, animal and plant health and environment and ecological diversity to be preserved and maintained, will considerably fill the particular gap (17).

CHAPTER THREE

MATERIALS AND METHODS

3.1 Materials:

In our study, we examined for GMO in 20 packaged and 20 unpackaged honey samples. While the packaged ones were of different brands, unpackaged ones were collected as samples. The samples were collected in a sterile container and conveyed to laboratory for analysis.

3.2 Methods:

DNA isolation was carried out taking 1 each table spoon from the samples. The isolated DNA's were studied on with Roche 480 II Real time PCR device. A control test was carried out in order to evaluate the test performance.

3.2.1.NucleicAcid Isolation

In our study, High Pure PCR Template Preparation Kit was used in DNA isolations. Thus initially a 5gr. honey sample was taken to aependorf and combined with proteinase K to be steeped in 95°C water bath. After incubation, 200 µl was received and applications were carried out in accordance with the flow shown in Figure 3.1.

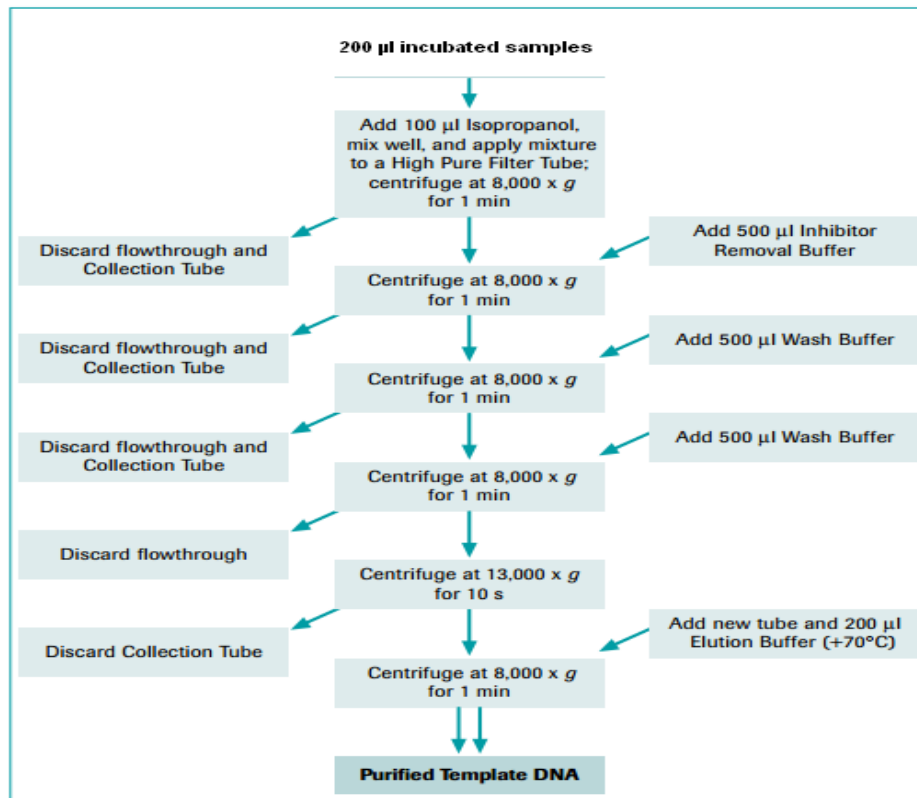


Figure 3.1: DNA isolation study flow plan

3.2.2 PCR

All tests were performed with Roche LightCycler 480 II.

3.2.2.1 Nucleic Acid Multiplying Methods

Nucleic acid multiplying and determination methods are usually examined under two groups.

- Nucleic acid probe hybridisation methods
- Nucleic acid amplification methods (NAA)

Nucleic acid probe hybridization methods are the oldest and simplest molecular method. The nucleic acid sequence in the example is hybridized and diagnosed with a marked probe which has a complementary. It is based on self-matching of DNA. It is used in order to determine the genomes of microorganisms which are hard to be identified or cannot be produced with culture method. Due to the fact that it requires

many pre-applications and it has a limited area of use makes it not a common method.

Nucleic acid amplification methods are frequently used in recent years. Polymerase chain reaction (PCR) is the most substantial one among these methods, which aims for the self-matching of DNA using appropriate base sequences to the target area. It is used in many areas ranging from food to health. It is used in medical researches the most.

3.2.2.2 Polymerase Chain Reaction (PCR)

PCR enables the selective amplification of DNA/ RNA, which are:

- Template DNA carrying target sequence
- 2 types of oligonucleotide primer matching with template DNA
- Four types of dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP)
- $MgCl_2$

PCR is a three phase method, which are denaturation, annealing and extension respectively.

Denaturation is the transformation of a two-stranded DNA into a one-stranded DNA in a couple of seconds with 94-96°C.

Annealing is for instance that a primary is annealed to the target region through keeping it at 30-60 °C.

Extension is the extension of primaries annealed to one-stranded DNA templates via polymerase enzyme in 5'→3' direction. It usually occurs at 65-72 °C.

These three stages constitute a cycle in PCR (Figure III.10.) and a PCR contains 30-45 on average. PCR occurs in Thermal Cycler devices enabling heat cycles, which are used to set the PCR sample at the programmed temperature and duration.

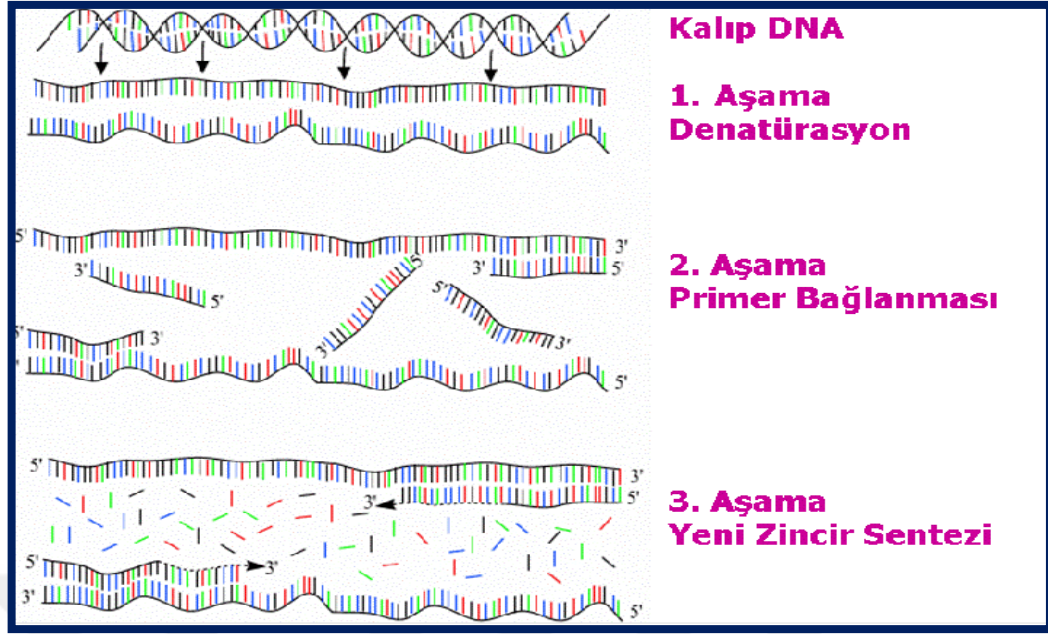


Figure 3.2 Schematic phases of a cycle in polymerase chain reaction

3.2.2.3 Polymerase Chain Reaction Types

1. Inverse PCR
2. PCR with homo polymer
3. In situ PCR
4. Hot start PCR
5. Multiplex PCR
6. Quantitative PCR
7. Nested, semi-nested PCR
8. RT (Reverse transcriptase) PCR
9. Touch down PCR
10. Consensus PCR
11. Real time PCR

The most suitable one should be chosen among PCR types. In our study, real time PCR method was used which is commonly used in recent years [94].

3.2.2.4. Real Time PCR

The combination of thermocyclers used to maintain heat cycles in PCR reactions with measurement devices produced a new method called real time PCR. In real time PCR, products are analysed during reaction. Therefore, there is no need for applications such as agarose gel electrophoresis, viewing DNA bands under ultraviolet lights. Fluorescent paints non-specific to sequence or probes specific to sequence are used in the qualitative and quantitative analysis of Real time PCR products.

Real time PCR is a system functioning according to the fluorescent light given by adequate products in PCR cycle during reaction, monitoring every stage of the reaction and controlling the product until the process concludes (figure 3.3).

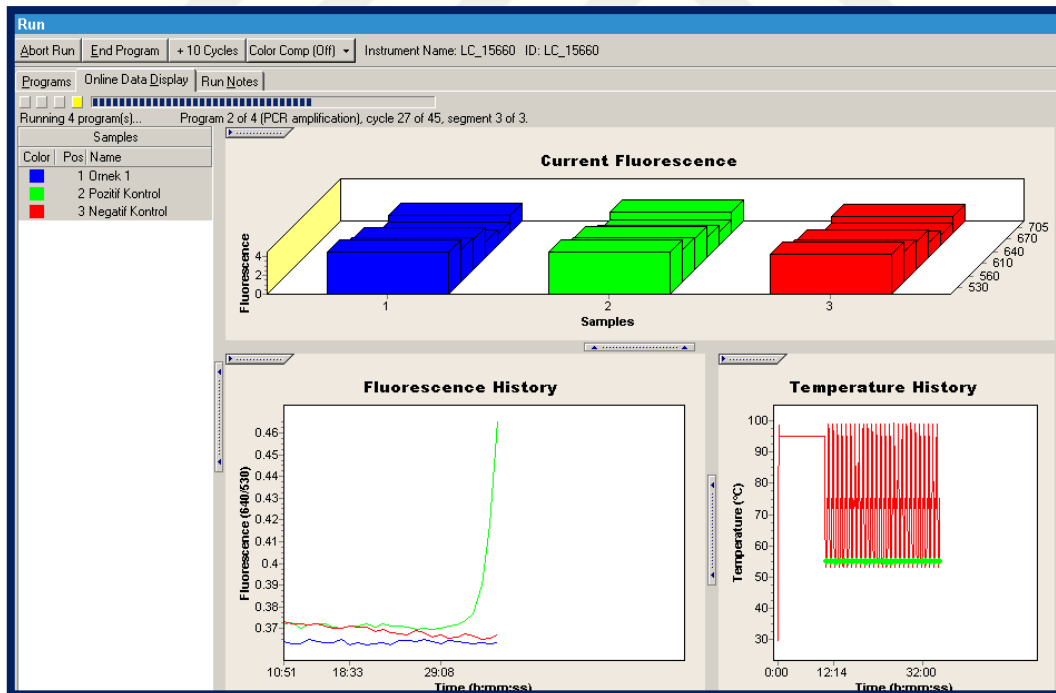


Figure 3.3 Real time PCR image monitored during work

DNA and RNA samples can be analysed as qualitative and quantitative in a short time thanks to PCR which can work with countless samples and rather low contamination risk. Specific DNA sequences ranging from 25 bp to 10.000 bp can be amplified with this method. It is rather fast, sensitive and specific. Its sensitivity and specificity increases when probes specific to sequence such as Taqman probes are used.

Various probe systems and dyes are used in real time PCR, which are:

Specific fluorescence marked dyes

- FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer)
- Taqman probe
- Scorpion primaries
- Hybridization probes

Unspecific fluorescence marked probes

- Sybr Green
- Ethidium Bromide (30)

3.2.2.5. GDO PCR

SureFood® GMO SCREEN 4plex 35S/NOS/FMV/IAC kit was used in our study. PCR (Polymerase Chain Reaction) multiplies DNA target sequence which is then determined through real time fluorescent marked hybridization. This kit is a real time PCR kit used in TaqMan probes marked with FAM/ TAMRA.

This kit can be used for screening of genetically modified organisms (GMOs) in food, feed and seeds. For this purpose, PCR systems for detection of the 35S Cauliflower Mosaic Virus (CaMV) promoter DNA sequence, *A. tumefaciens* NOS terminator DNA sequence and for detection of the 34S FMV promoter DNA sequence are applied. Additionally the kit contains an internal inhibition control

The real-time PCR assay can be used with established real-time PCR instruments, equipped for detection of four fluorescence emissions at 522 nm, 553 nm, 610 nm and 670 nm (FAM, VIC, ROX and Cy5) at the same time (Rotor-Gene Q, Stratagene MxSeries, BioRad CFX96, Roche LightCycler® 480* etc.). This kit has a limit of detection of < 5 DNA copies.

In our study, Roche LightCycler® 480 Instrument II was used. The LightCycler® 480 System is a high-performance, medium- to high-throughput PCR platform (96- or 384-well plates) that provides various methods for gene detection, gene expression analysis, genetic variation analysis, and array data validation. The system features the LightCycler® 480 Instrument, a versatile, plate-based real-time PCR device that supports mono- or multicolor applications, as well as multiplex protocols. The benchtop instrument is easily customizable to meet changing user requirements, and can be integrated into everyday use as a robotically controlled, automated high-throughput solution. The LightCycler® 480 Instrument is designed for general laboratory use and is not intended for use in diagnostic procedures.



Figure 3.4 Roche The LightCycler® 480 System Machine.

PCR Mix Preparation: Positive control was made in each study. During studies, PCR compounds were kept in an ice block, not at room temperature. PCR mixture was prepared according to kit recommendations (Table 3.1). Calculations were made as the number of samples, and distributed to PCR plate as 20 each μ l. 5 μ l DNA was placed in each well. Sterile distilled water was used for negative control.

A final positive control was carried out and a filter film was put on the plaque in order to prevent contamination. Film remained untouched not to affect test performance.

Table 3.1: PCR Mix Preparation

Components formaster mix	Amountperreaction
Reaction mix	19.9 µl
Taqpolymerase	0.1 µl
Total volume	20.0 µl
DNA	5 µl

PCR Conditions: Centrifuged, the plate was installed to the device and the device was opened in accordance (Table 3.2) with the recommendation of the kit (Figure 3.5) (Table 3.2).

Table 3.2: PCR Conditions

Analysis Mode	Segment	Cycle	Temperature (°C)	Hold Time (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)	AcquisitionMode
Initialdenaturation						
None	1	1	95	5 min.	Maximum	None
Amplifikasyon						
Quantification	Denaturation	45	95	15 sec.	Maximum	None
	Annealing/ Extension		60	30 sec.	Maximum	Single
Cooling Step						
None	1	1	40	30 sec.	Maximum	None

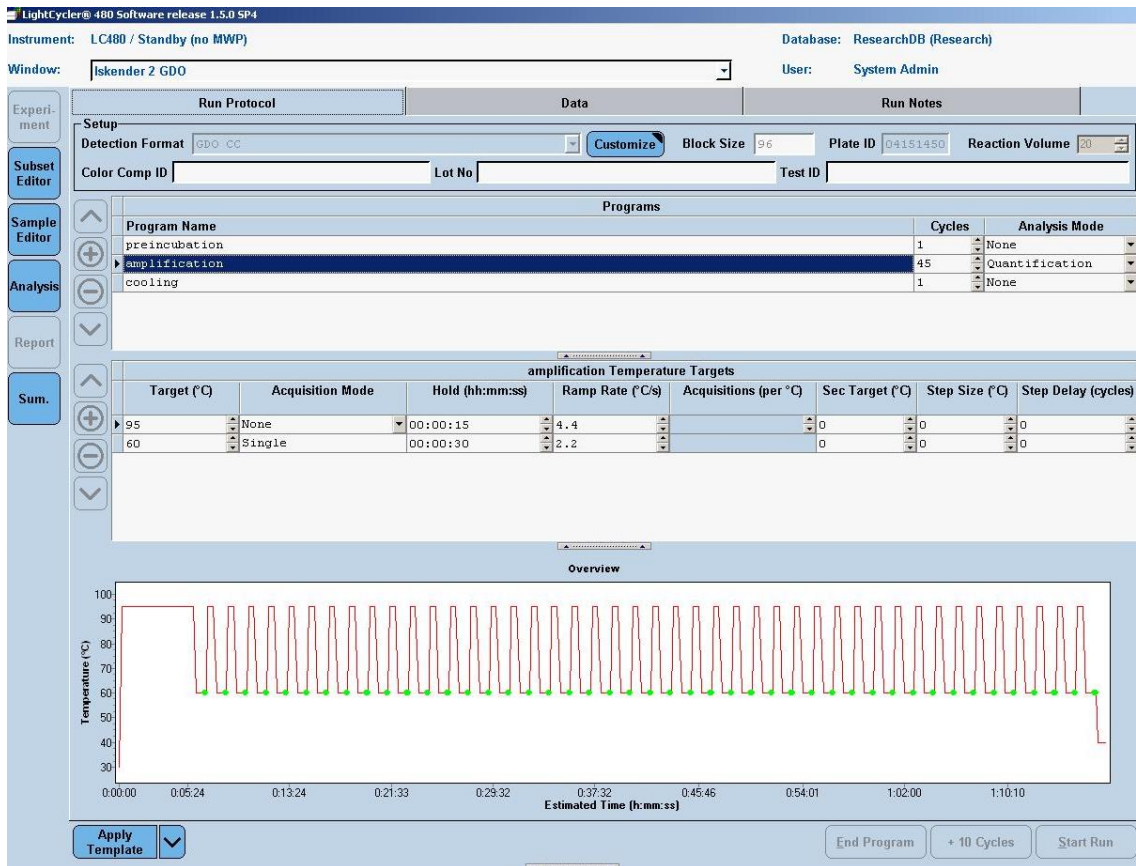


Figure 3.5 RocheTheLightCycler® 480 SystemScreen

CHAPTER FOUR

RESULTS AND DISCUSSION

4.1 Quality Control results: It was checked whether the controls were working in recommended channels (table 4.1) for every region in order to evaluate the performance of the test (figure 4.1-4.3). No contamination was observed in the negative control in the test.

Table: 4.1 Interpretation of results.

Region Name	Dye	Detection Channel
35S	FAM	465/510
NOS	Cy5	618/660
FMV	ROX	533/610
Amplification Control	VIC/HEX	533/580

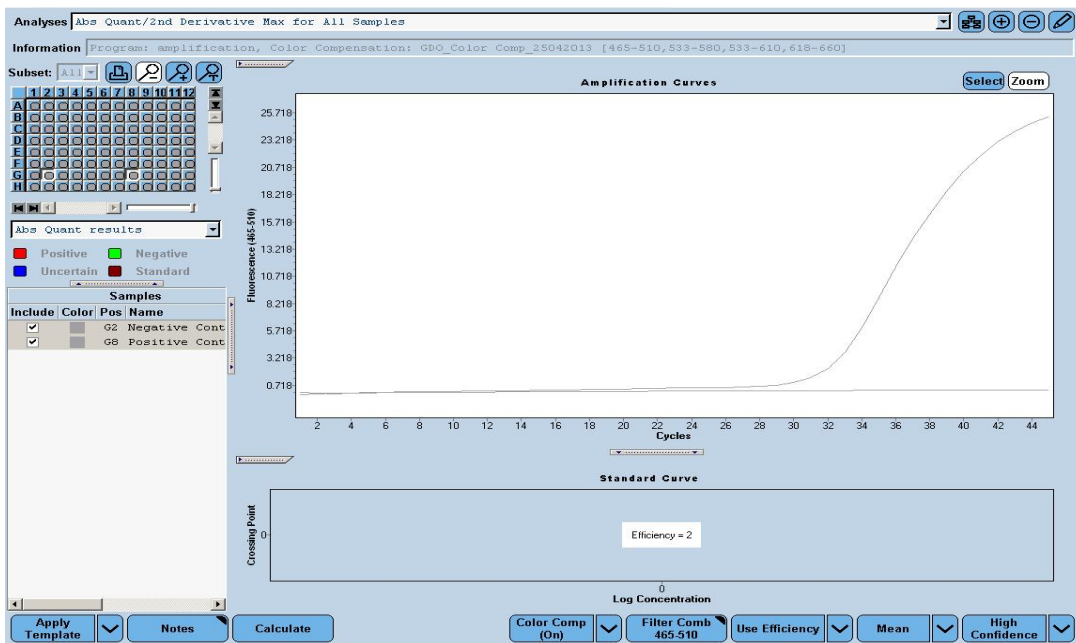


Figure 4.1 Quality control results for 35 S

35S Promotor sequence scan results were found out to be negative (şekil4.1).

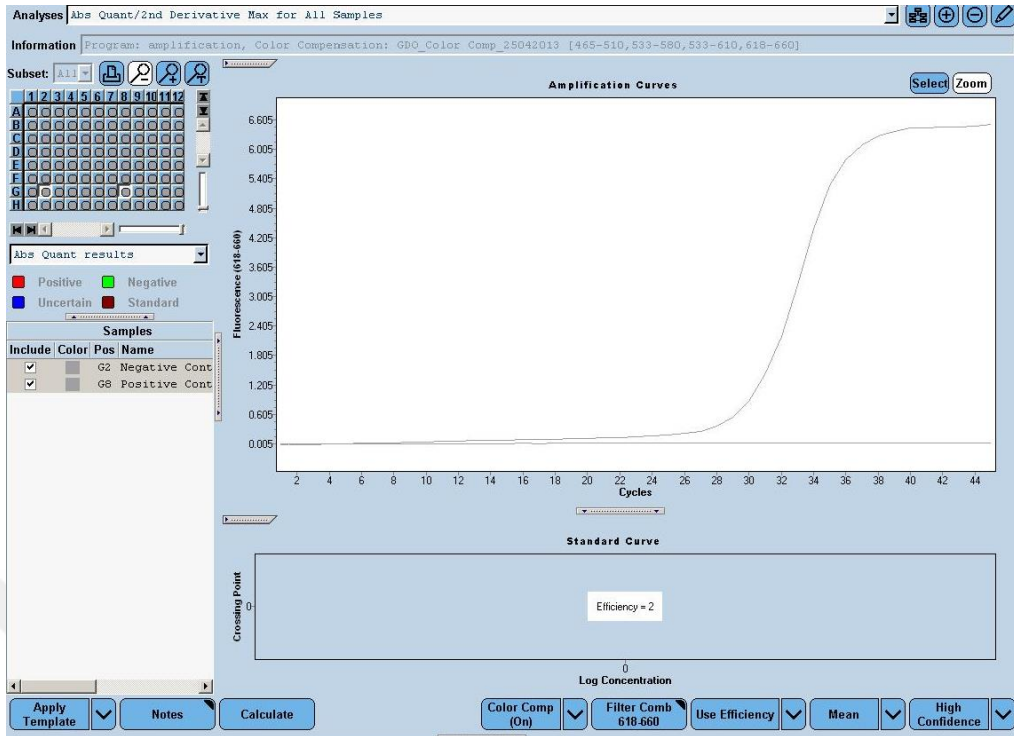


Figure 4.2 Quality control results for NOS

Quality control results were found out to be negative for FMV gene area (Şekil 4.2).

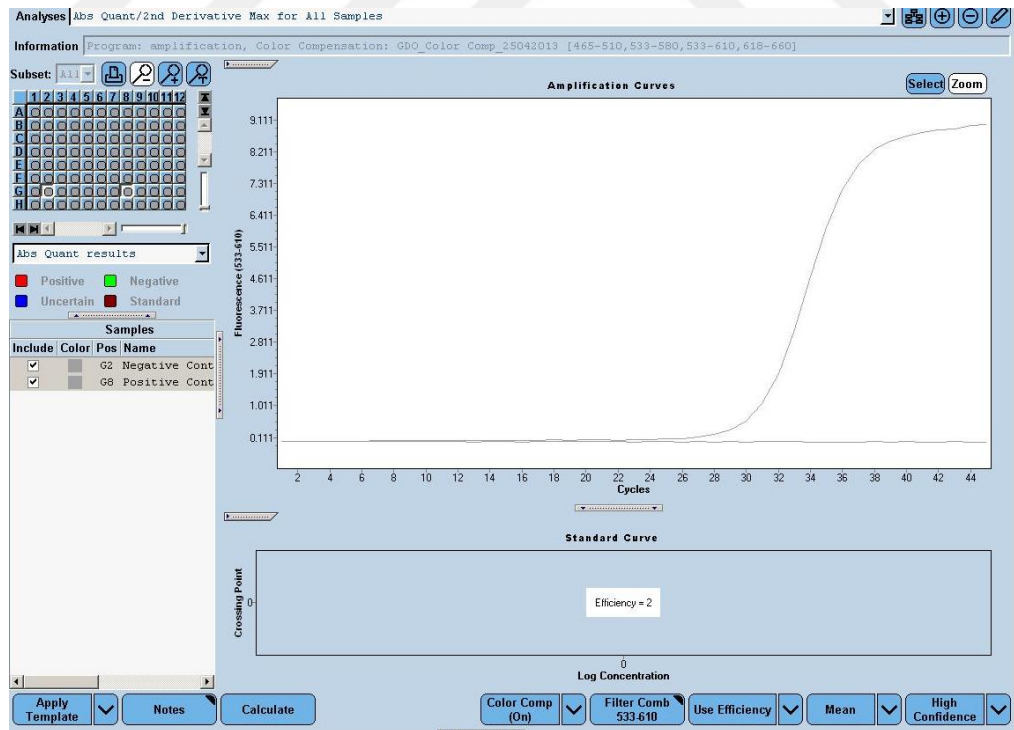


Figure 4.3 Quality control results for FMV,

Internal Control Results: Internal Control (IC) PCR is of great importance, especially in terms of our particular study. Because it indicates that PCR is working and whether there is DNA/ RNA in the sample. Every test result was found out to be negative for every area in our study. IC results should be examined in order to understand whether they are truly negative or there is an inhibitor. IC control results were assessed for each sample in 533/580 channel (figure 4.4).

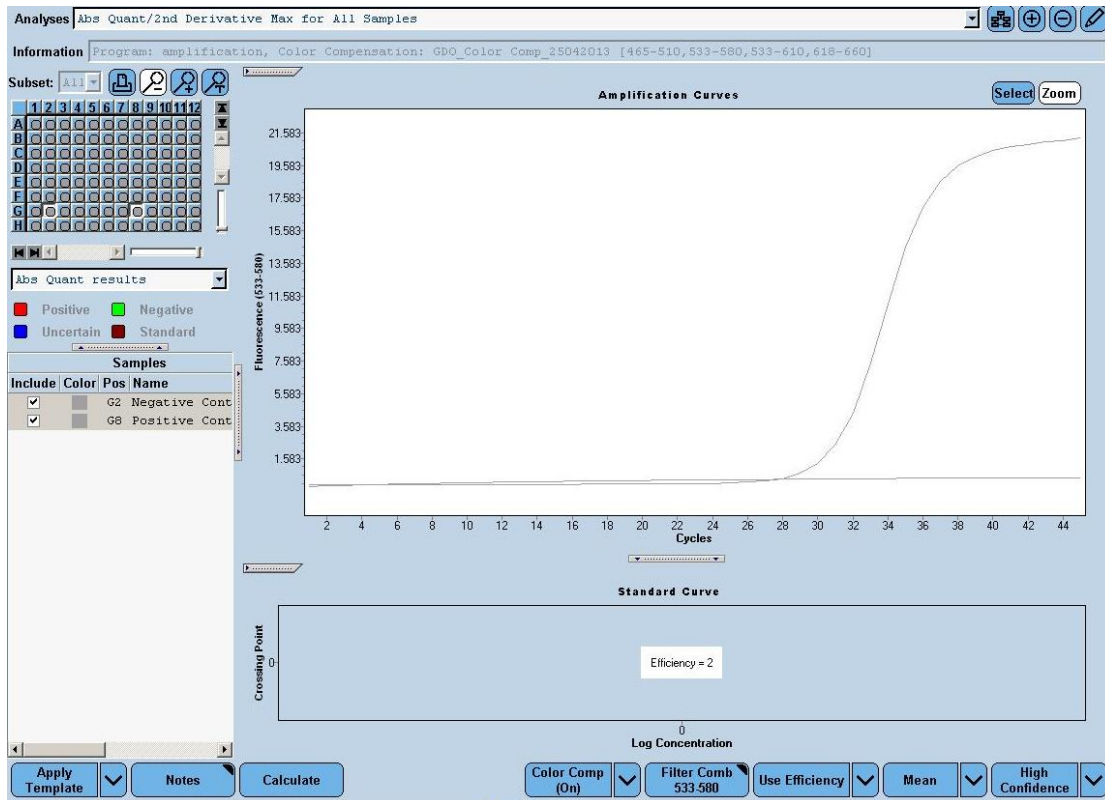


Figure 4.4 Quality control results for internal control

Internal control results for every sample were found out to be positive, which indicates that we should count on the tests.

GMO PCR Results: Results in appropriate channels were observed for each region.

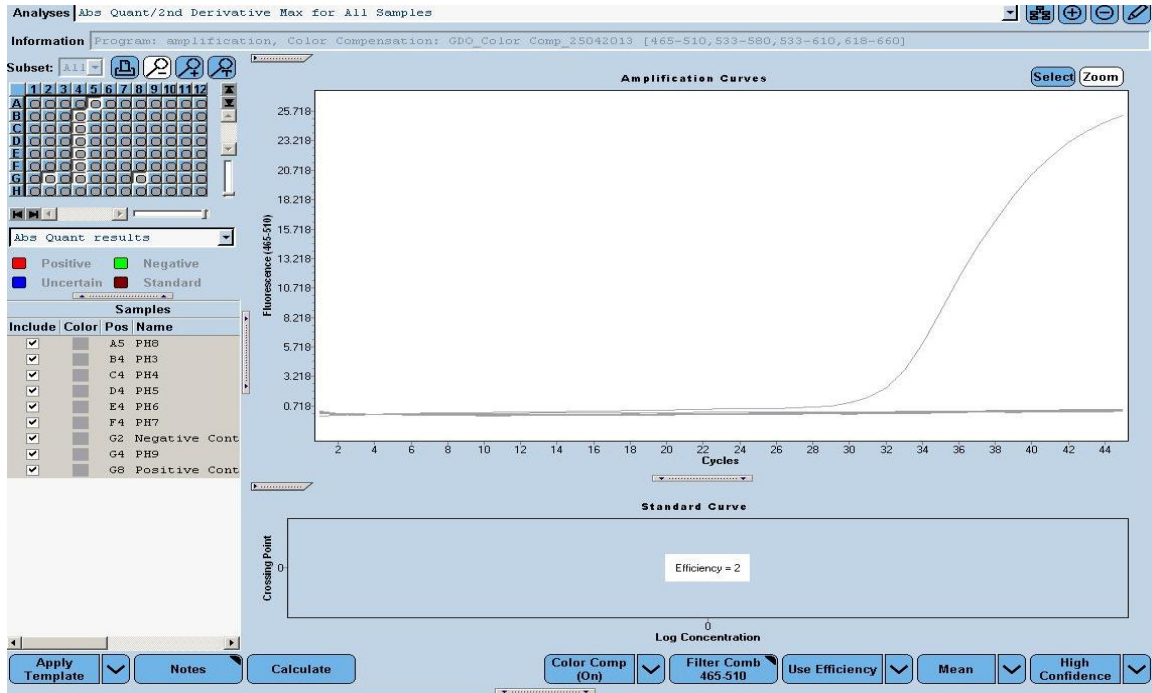


Figure 4.5 35S Promotor sequence scan results

35S Promotor sequence scan results were found out to be positive (Şekil 4.5).

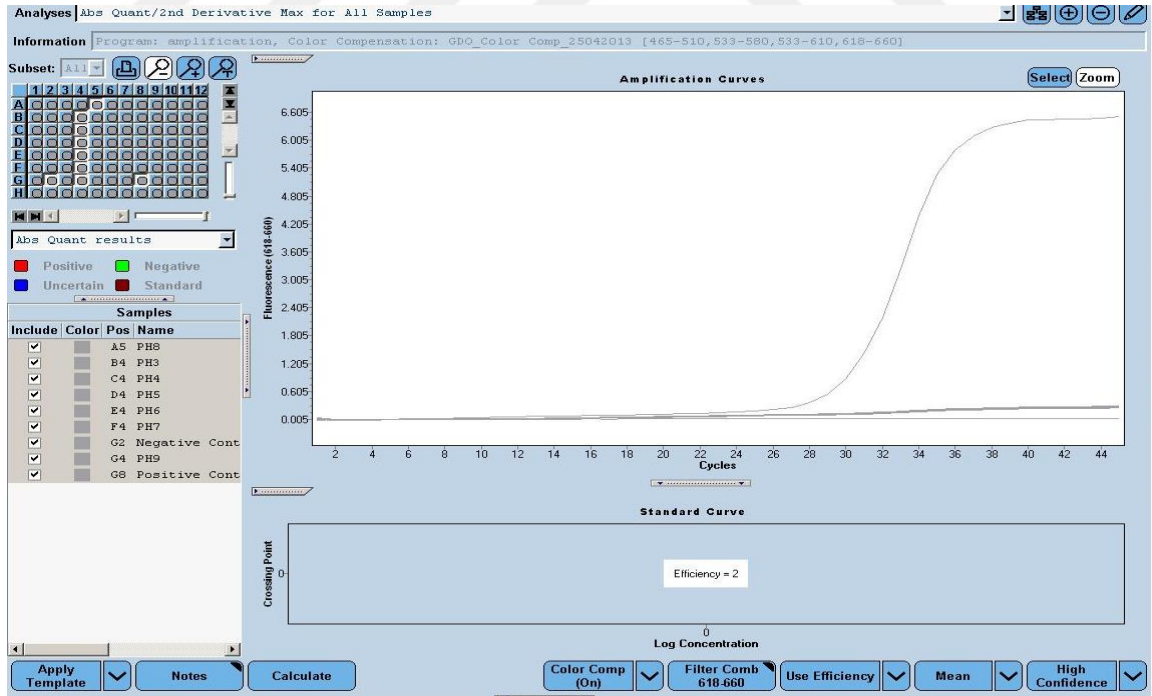


Figure 4.6 NOS terminator sequence scan results

NOS terminator sequence scan results were found out to be positive (figure 4.6).

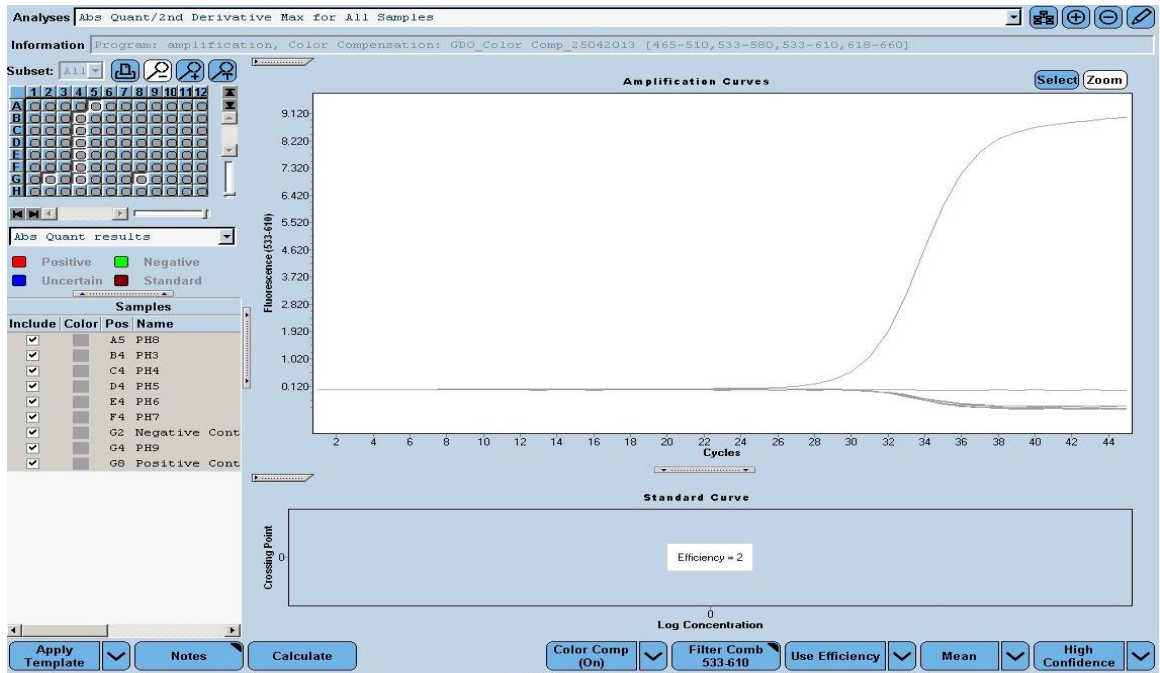


Figure 4.7 FMV promoter sequence scan results

FMV promoter sequence scan results were found out to be positive

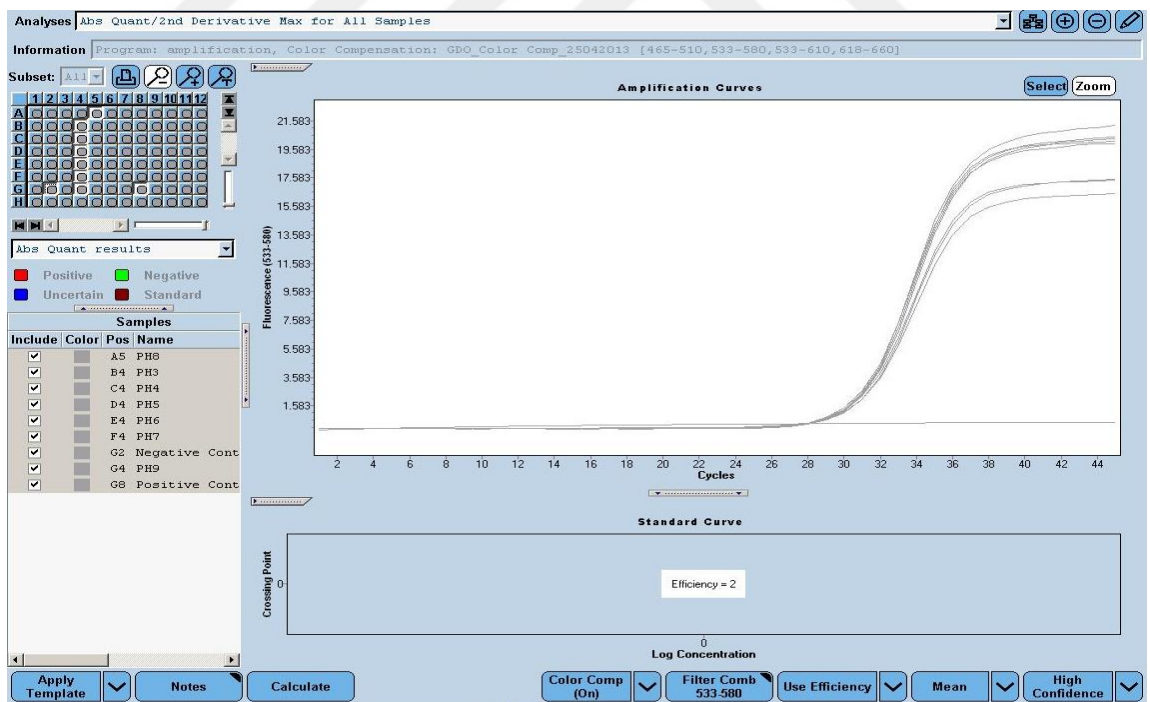


Figure 4.8 IC results of honey products

IC results of honey products were found out to be positive (figure 4.8)

No GMO was detected in either packaged honey samples or unpackaged ones. Test validity was justified with quality control results (Table 4.2, 4.3)

Table 4.2 Results of UnpackedHoneySamples' GMO

Unpacked	35S	NOS	FMV	Amplification Control
Samples	465/510	618/660	533/610	533/580
UnpackedHoney 1	Negative	Negative	Negative	Positive
UnpackedHoney 2	Negative	Negative	Negative	Positive
UnpackedHoney 3	Negative	Negative	Negative	Positive
UnpackedHoney 4	Negative	Negative	Negative	Positive
UnpackedHoney 5	Negative	Negative	Negative	Positive
UnpackedHoney 6	Negative	Negative	Negative	Positive
UnpackedHoney 7	Negative	Negative	Negative	Positive
UnpackedHoney 8	Negative	Negative	Negative	Positive
UnpackedHoney 9	Negative	Negative	Negative	Positive
UnpackedHoney 10	Negative	Negative	Negative	Positive
UnpackedHoney 11	Negative	Negative	Negative	Positive
UnpackedHoney 12	Negative	Negative	Negative	Positive
UnpackedHoney 13	Negative	Negative	Negative	Positive
UnpackedHoney 14	Negative	Negative	Negative	Positive
UnpackedHoney 15	Negative	Negative	Negative	Positive
UnpackedHoney 16	Negative	Negative	Negative	Positive
UnpackedHoney 17	Negative	Negative	Negative	Positive
UnpackedHoney 18	Negative	Negative	Negative	Positive
UnpackedHoney 19	Negative	Negative	Negative	Positive
UnpackedHoney 20	Negative	Negative	Negative	Positive

Table 4.3 Results of PackedHoneySamples' GMO

Packed	35S	NOS	FMV	Amplification Control
Samples	465/510	618/660	533/610	533/580
PackedHoney 1	Negative	Negative	Negative	Positive
PackedHoney 2	Negative	Negative	Negative	Positive
PackedHoney 3	Negative	Negative	Negative	Positive
PackedHoney 4	Negative	Negative	Negative	Positive
PackedHoney 5	Negative	Negative	Negative	Positive
PackedHoney 6	Negative	Negative	Negative	Positive
PackedHoney 7	Negative	Negative	Negative	Positive
PackedHoney 8	Negative	Negative	Negative	Positive
PackedHoney 9	Negative	Negative	Negative	Positive
PackedHoney 10	Negative	Negative	Negative	Positive
PackedHoney 11	Negative	Negative	Negative	Positive
PackedHoney 12	Negative	Negative	Negative	Positive
PackedHoney 13	Negative	Negative	Negative	Positive
PackedHoney 14	Negative	Negative	Negative	Positive
PackedHoney 15	Negative	Negative	Negative	Positive
PackedHoney 16	Negative	Negative	Negative	Positive
PackedHoney 17	Negative	Negative	Negative	Positive
PackedHoney 18	Negative	Negative	Negative	Positive
PackedHoney 19	Negative	Negative	Negative	Positive
PackedHoney 20	Negative	Negative	Negative	Positive

DISCUSSION

The European people generally define biotechnology and genetic engineering in food production as “risky”. Biotechnology use in insulin production highlights the so-called terrifying aspect of biotechnology; therefore the biotechnology use is not as risky as it was in the 90’s. That European people generally do not acknowledge the biotechnology is assumed to be closely related to the amount of knowledge about it. Moreover, it is a fact that the knowledge about the particular science reflects little on attitudes, which indicates that no matter how informed people are, they still will not reflect it to their attitudes (18).

According to a Eurobarometer study in 1990, perspective on biotechnology is not related much to knowledge and education. Not only the European people, but also the Americans are uncertain about biotechnology. It has been determined that German people have a higher awareness than Americans about GMO. The difference of acknowledgement and perspective between the European people and the Americans is because the former cares about the way foods are produced a lot more, and also because the Americans trust the federal food arrangement applications and science, which makes the European people more sceptic about any subarea of biotechnology. Most of the Europe is reluctant to acknowledge genetically modified foods due to inadequate benefits. Accordingly, negative approaches towards biotechnology are assumed to be related to inadequate knowledge about the particular issue (19). In a study conducted abroad, almost half of the USA citizens supported GMO products in agriculture, regard them as developed foods and interpret the spreading use of such foods as a decrease in agricultural pesticide use and an increase in food quality (20, 21).

In the European countries, 43,2% to 62% attendants in the studies conducted in China and Indonesia believed the products they bought were GMO. The rates in our country were found out to be high compared to other studies conducted in the world. In the study conducted by Christoph et al. (2008), 40% of the consumers throughout the country said they would refuse to consume GMO’s even though they had benefits on health and environment. Furthermore, consumers in England, France, Spain and Italy stated that they would not use products acquired through GMO’s (22).

According to a study conducted in Taiwan, 60% of the people in Taiwan think foods containing GMO are unsafe. Besides, it is apparent that people are not optimistic about the issue even though their knowledge raises. The main reason behind this particular fact is that people become more sceptic asking more critical questions as they have more knowledge (18). Studies indicated that GMO DNA particles were found in the milk and meat of animals fed with GMO forage. For instance, Agodi et al. (2006) observed GMO DNA particles in animals fed with GMO corn and soya; while Mazza et al. (2005) detected GMO DNA's in the tissues of animals fed with GMO corn (16). No GMO was observed in the honey samples analysed in our study, which is rather promising.

Another study conducted by Kılıç and Akay reported that Wistar albino rats were fed with GMO (including transgenic) corn for three (3) generations and no change was observed among generations in terms of the number of births and the rate of staying alive after birth.

Studies produced findings that GMO products increased risks of infertility and giving birth to disabled children. In a study conducted by the European Food Security Institute in 2007 about the particular issue indicated that baby rats born from she rats fed with GMO soya were smaller than others and most of them died within three weeks.

All of the rats fed with GMO potato by Dr. Arpad Rusztai from Scottish Rowett Institute were observed to have internal organ shrinkage, digestive system failure, immunity breakdown, deterioration in blood form and thickening in stomach wall.

In a study conducted in Japan by McClusky et al. (2003), the consumer attitude towards genetically modified products was analysed. While consumers said they would prefer to use such products if prices were low, the major variables were determined as education level, income level and knowledge on the issue.

Van Den Bergh and Holley (2001) conducted a study indicating the advantages and disadvantages of transgenic organisms used in agriculture. In this study, they argued the effects of transgenic organisms used in agriculture on environment, human health, economic profitability, population growth, developing countries and developed ones.

In 2002, Permingeat et al. developed a multi PCR method in order to determine CryI(b) and Pat genes in event 176, MON810, Bt11 and T25 transgenic corn simultaneously. They designed ta using Roundup Ready soya as regular primers with multi PCR and determined the multiplying fragments of Nos and EPSPS sequences Wang and Fang aimed to qualify genetically modified soya through multi PCR method in 2005. They used 4 primers, which were 35Sp (cauliflower mosaic virus 35S promoter), nosT (Agrobacterium tumefaciens nopaline synthase terminator), 35SP/CTP (Petunia hybrida EPSPS chloroplast transit peptide) and Lec (lektin) primers. 14 soya examples out of 21 were defined transgenic through multi PCR. The study indicated that multi PCR method was a quick and effective method to determined transgenic foods in soya.

In 2005, Greiner et al. used the method based on qualitative and quantitative PCR in order to define transgenic corn and soya in processed food sold in Brazil. In 2000, 100 foods containing corn and another 100 foods containing soya were analyzed, and re-analyzed in the following year. According to the consequences, GMO was detected in 13% and 8% in products containing soya and those containing corn respectively. It was observed that while 5 of the products contained less than 4% soya with GMO, 8 of the products contained more than 4% soya with GMO. Furthermore, while the corn rate was less than 4% in 5 of the products, it was more than 4% in 3 of them. In 2001, it was found that GMO soya rate in foods containing soya and GMO corn rate in foods containing corn were 21% and 9% respectively. It was observed that 8 products contained less than 4% GMO, while 13 products contained more than 4% GMO.

CHAPTER FIVE

CONCLUSION

Distribution of genetically modified living things and foods acquired through them is rapidly increasing. It is apparent that biotechnological products are going to have an important role in terms of not only agricultural production but in our daily lives as well in the upcoming years. Despite ongoing studies on GMO's, no definite conclusion has come about the benefits and harms of GMO's due to inadequate scientific findings. Accordingly, necessary precautions should be taken as soon as possible in order to minimize the potential effects and risks to our environment and next generations.

Surveys indicate that consumers want to know if the product they buy has GMO's. Therefore, it is of great importance for GMO products to have GMO labels on, related legal arrangements be made as soon as possible, and public to be informed and its awareness raised

RESOURCES

1. Kaynar P. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi 2009; 66 (4): 177-185.
2. Özmert Ergin S. , Yaman H. Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi / Gümüşhane University Journal of Health Sciences: 2013;2(2)
3. Özdemir O. , Duran M Muğla Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, İlköğretim Bölümü, Fen Bilgisi Eğitimi Anabilim Dalı, Muğla Biyoteknolojik Uygulamalara ve Genetiği Değiştirilmiş Organizmalara (GDO) İlişkin Tüketici Davranışları /2010/5/20-28
4. Kulaç İ. , Ağirdil Y. , Yakın M. Türk Biyokimya Dergisi [Turkish Journal of Biochemistry–Turk J Biochem] 2006; 31 (3) ; 151–155.
5. Deniz Korkut A. Soysal : Halk Sağlığı Uzmanları Derneği (HASUDER) 23 Aralık 2013
6. Yeşilbağ D. Uludağ Univ. J. Fac. Vet. Med. 23 (2004), 1-2-3: 157-162 Tarımsal ve Hayvansal Ürünlerde Modern Biyoteknoloji ve Organik Üretim
7. Ergin, I., Gürsoy, Ş.T., Öcek, Z.A., Çiçeklioğlu, M. Sağlık Meslek Yüksekokulu Öğrencilerinin Genetiği Değiştirilmiş Organizmalara Dair Bilgi Tutum ve Davranışları. TAF PreventiveMedicineBulletin 2008; 7(6):503–508.
8. Zülal A. Gen Aktarımlı Tarım Ürünleri. Bilim ve Teknik Dergisi. 2003; 426.
9. Key S, Julian K-C Ma, and Pascal MW Drake Genetically modified plants and human health J R Soc Med. 2008 Jun 1; 101(6): 290–298.
10. Harlander SK. Food Biotechnology. Yesterday, Today and Tomorrow. Food Technology. 1989; 43:196-206
11. Brooks E. BST and Love Foods Battle for Headlines. Food Technol.1994; 98: 34.
12. Kaya E. , Gürbüz E. , Derman M. Üniversite Öğrencilerinin Genetiği Değiştirilmiş Gıda Ürünlerine Bakışı Iğdır Üni. Fen Bilimleri Enst. Der. / Iğdır Univ. J. Inst. Sci. & Tech. 2(3): 55-60, 2012
13. Kefi S. Genetik Olarak Değiştirilmiş Organizmaların (GDO'ların) Dünyada 2002 Yılı İtibariyle Mevcut Durumu, Ortak Tarım Politikası. 7. Dönem AB Uzmanlık Kursu, Ankara Üniversitesi Avrupa Toplulukları Araştırma ve Uygulama Merkezi, 2002; 16.

14. Kaynar P. Genetik Olarak Değiştirilmiş Organizmaların (GDO) Avrupa Birliği'ndeki ve Türkiye'deki Mevcut Durumu, Gıda. 39. Dönem AB Temel DNA Eğitim Kursu, Ankara Üniversitesi Avrupa Toplulukları Araştırma ve Uygulama Merkezi, 2007:40
15. Anonymouse. Life Sciences and Biotechnology-A Strategy for Europe. Brussels: Commission of The European Communities, 2002; 27-35.
16. Hanoğlu H. Organik Tarım Mevzuatına Göre Türkiye'de Büyükbaş Ve Küçükbaş Hayvan Yetiştiriciliği 'Tarım Ekonomisi Dergisi' 2013; 19(1): 27-34 Haspolat I. Genetiği değiştirilmiş organizmalar ve biyogüvenlik Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg, 59, 75-80, 2012
17. Haspolat I. Genetiği değiştirilmiş organizmalar ve biyogüvenlik Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg, 59, 75-80, 2012
18. James, C. 2004. Global Status of Commercialised Biotech/GM Crops, ISAAA Briefs, The International Service for the Acquisition of Agribiotech Applications, Ithaca, New York. Sinemus, K. , Egelhofer, M., Transparent communication strategy on GMOs: Will it change public opinion?, Biotechnology Journal, 2007, 1141-1146
19. Özdemir O, Duran M. Biyoteknolojik uygulamalara ve genetiği değiştirilmiş organizmalara ilişkin tüketici davranışları. Akademik Gıda 2010;8(5):20-28.
20. Chern WS, Rickertsen KA. Comparative analysis of consumer acceptance of GM foods in Norway and the USA. In Consumer Acceptance of Genetically Modified Foods, Edited by R.E. Evenson and V. Santaniello, Cabi Publishing, Cambridge, USA, 2004.
21. Ergin I, Taner Gürsoy Ş, Öcek Z.A. ve ark. Sağlık meslek yüksekokulu öğrencilerinin genetiği değiştirilmiş organizmalara dair bilgi tutum ve davranışları. TAF Preventive Medicine Bulletin 2008;7(6):503-508 Ergin I, Taner Gürsoy Ş, Öcek Z.A. ve ark. Sağlık meslek yüksekokulu öğrencilerinin genetiği değiştirilmiş organizmalara dair bilgi tutum ve davranışları. TAF Preventive Medicine Bulletin 2008;7(6):503-508
22. Demir A, Pala A. Genetiği Değiştirilmiş Organizmalara Toplumun Bakış Açısı. Hayvansal Üretim, 2007; 48 (1): 33-43.

23. Kuiper, H.A. , et al. , Concluding Remarks, Food and Chemical Toxicology, 42, 1195-1202,2004.
24. Çelik V. , Turgut D. Genetik Modifiye Organizmalar, “Avrupa Ülkelerine Yaş Meyve Sebze İhracatının Araştırılması Projesi” Çalışma Grubu, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 23 (1-2) 13 - 23 (2007)
25. Batalion N (2000): 50 Harmful Effects of Genetically Modified Foods. Americans for Safe Food, Oneonta, NY.
26. Batalion N (2000): 50 Harmful Effects of Genetically Modified Foods. Americans for Safe Food, Oneonta, NY.
27. Kulaç I. , Ağirdil Y. Yakın M. [The Sweet Trouble on Our Tables, Genetically Modified Organisms and Their Effects on Public Health Türk Biyokimya Dergisi [Turkish Journal of Biochemistry–Turk J Biochem] 2006; 31 (3) ; 151–155.
28. Karalti, I. Candida ve Aspergillus enfeksiyonlarının realtime pcr yöntemi ile hızlı tanısının kültür yöntemi ile karşılaştırılması ve antifungal direncin kolorimetrik yöntemle tayini, Marmara Üniversitesi FBE Doktora Tezi, 2011. Sayfa 1-101.
29. Reference: SureFood® GMO SCREEN 4plex 35S/NOS/FMV/IAC Kit Insert.
30. Reference: High Pure PCR Template Preparation Kit, 2016.
31. Kılıç, A.&Akay, M. T. 2008. A three generation study with genetically modified Bt corn in rats: Biochemical and histopathological investigation. Food and Chemical Toxicology, 46 (3), 1164-1170.
32. İnce H. Ö. , Bahadıroğlu C. , Toroğlu S. , Bozdoğan H. Genetiği Değiştirilmiş Mısır Bitkisinin Zararlı Lepidopterlere Karşı Direnci Üzerine Değerlendirmeler Ana sayfa Cilt 2, Say 1 (2013)