

LEMBARAN FAKTA

PERMOHONAN UNTUK MENDAPATKAN KELULUSAN BAGI PELEPASAN PRODUK KACANG SOYA DAS-68416-4 BAGI TUJUAN PEMBEKALAN ATAU TAWARAN UNTUK MEMBEKALKAN BAGI PENJUALAN ATAU MELETAKKAN DI PASARAN

NOMBOR RUJUKAN LBK: JBK(S) 602-1/1/38

Objektif Akta Biokeselamatan adalah untuk melindungi kesihatan manusia, tumbuh-tumbuhan dan haiwan, alam sekitar dan kepelbagaian biologi. Di bawah Akta Biokeselamatan, Lembaga Biokeselamatan Kebangsaan (LBK) sedang membuat penilaian terhadap permohonan kelulusan daripada Syarikat Dow AgroSciences (M) Sdn Bhd.

1. Apakah tujuan permohonan ini?

Untuk mengimport produk kacang soya DAS-68416-4 untuk tujuan kegunaan langsung sebagai makanan, makanan haiwan dan juga untuk tujuan pemprosesan (*food, feed and processing, FFP*).

2. Apakah tujuan pengimportan dan pelepasan ini?

Tujuan pengimportan dan pelepasan ini adalah bagi maksud pembekalan atau tawaran untuk membekalkan bagi penjualan atau meletakkan dalam pasaran - untuk tujuan kegunaan langsung sebagai makanan, makanan haiwan dan juga untuk tujuan pemprosesan. Kacang soya ini bukan untuk tujuan ditanam di Malaysia.

3. Bagaimanakah LMO diubah suai?

Kacang soya DAS-68416-4 telah diubah suai secara genetik untuk mengekspresikan protein AAD-12 dan protein PAT. Gen *aad-12* mengekod enzim *aryloxyalkanoate dioxygenase-12* (AAD-12) yang apabila diekspresikan di dalam tumbuh-tumbuhan, ianya akan menukar 2,4-D kepada 2,4-dichlorophenol (DCP) herbisid yang tidak aktif. Gen *pat* mengekod enzim *phosphinothricin acetyl transferase* (PAT) yang menyahaktifkan glufosinate. Penghasilan kacang soya DAS-68416-4, dijangka akan memberi kesan yang baik terhadap amalan kawalan rumpai dengan menyediakan alternatif kepada para penanam dalam pengawalan masalah rumpai.

4. Ciri-ciri LMO

a) Maklumat tentang organisma induk

Kacang soya telah lama ditanam sebagai tanaman pertanian dan maklumat berkaitan ciri fenotip dan genetiknya telah dicirikan dan dikenalpasti dengan baik.

Kacang soya adalah ditanam sebagai tanaman komersial di lebih 35 negara di seluruh dunia. Kacang soya, *Glycine max* (L.), merupakan benih minyak utama yang didagangkan di pasaran antarabangsa. Pengeluar utama adalah daripada Amerika Syarikat, Argentina, Brazil, dan China yang merangkumi 87% daripada jumlah pengeluaran. Kebanyakan makanan kacang soya, 97% telah digunakan dalam makanan haiwan, iaitu 46% untuk ayam ternakan, 32% untuk khinzir, dan 9% masing-masing untuk tenusu dan makanan daging lembu. Jumlah yang agak besar juga digunakan dalam makanan haiwan peliharaan.

Tanaman benih kacang soya jarang menunjukkan ciri-ciri dorman dan hanya di bawah keadaan persekitaran tertentu ia akan tumbuh sebagai tumbuhan *volunteer* selepas penanamannya. Jika ini berlaku, tumbuhan *volunteer* ini tidak bersaing dengan tanaman yang ditanam dan mudah dikawal secara mekanikal atau kimia. Tanaman kacang soya tidak mempunyai sifat *weedy*. Dalam ekosistem yang terurus, kacang soya tidak bersaing secara efektif dengan tanaman tumbuhan lain atau pengkoloni utama

Kacang soya hanya boleh menjalankan pendebungaan silang sesama ahli di dalam *Glycine subgenus Soja*. Potensi untuk aliran gen adalah terhad oleh pengasingan geografi dan fakta menunjukkan kacang soya adalah spesies yang berpotensi tinggi untuk pendebungaan sendiri. Spesies kacang soya liar adalah endemik di China, Korea, Jepun, Taiwan dan former USSR.

Asal usul	Pembibitan	Toksin	Kealergenikan
Utara dan China tengah	Kacang soya dianggap sebagai spesies yang menjalankan pendebungaan sendiri dan pemindahan pendebungaan biasanya kurang daripada satu peratus	Kacang soya dan produk-produk yang diperolehi daripadanya, tidak dianggap mempunyai kesan toksik terhadap manusia, haiwan dan organisme lain.	Kacang soya "(<i>Glycine max</i>)" adalah salah satu daripada lapan makanan alahan penting.

b) Maklumat tentang organisma penderma

Delftia acidovorans - penderma kepada gen *aad-12*

Delftia acidovorans, yang sebelumnya dikenal pasti sebagai *Pseudomonas acidovorans* dan *Comamonas acidovorans* adalah sejenis bakteria gram negatif berbentuk rod yang tidak menapai glukos, tidak membentuk spora dan boleh dijumpai di dalam tanah, air tawar, enapcemar aktif dan spesimen klinikal. *Delftia acidovorans* boleh digunakan untuk mengubah asid ferulik ke vanillin serta metabolit perasa yang berkaitan. Keadaan ini menyebabkan *D. acidovorans* digunakan dengan selamat di dalam industri pemprosesan makanan. Sebagai contoh, Paten US 5,128,253 *Bioconversion process for the production of vanillin* (Proses Biopenukaran untuk penghasilan vanillin) telah dikeluarkan pada 7 Julai 1992 kepada Kraft General Foods. Strain ini juga menghasilkan *polyhydroxyalkanoates* yang sedang dibangunkan sebagai biomaterial untuk aplikasi perubatan.

Streptomyces viridochromogenes - penderma kepada gen *pat*

Streptomyces viridochromogenes adalah bakteria tanah biasa yang menghasilkan tripeptide *L-phosphinothricyl-L-alanyl-alanine* (L-PPT), yang telah dibangunkan sebagai racun rumpai tidak terpilih oleh Hoechst Ag. Gen *pat*, yang mengkodkan protein *phosphinothrin acetyl transferase* menjadikan *S. viridochromogenes* toleran terhadap racun rumpai glufronate ammonium.

Nama Latin	Gen	Kepatogenan
<i>Delftia acidovorans</i>	<i>aad-12</i>	<i>Delftia acidovorans</i> adalah sejenis bacillus gram negatif aerobik yang tidak menjalankan penapaian. Ia biasanya sejenis organisme alam sekitar yang tidak patogen dan kurang penting dari segi klinikal. <i>D. acidovorans</i> mempunyai sejarah penggunaan yang selamat dalam industri pemprosesan makanan
<i>Streptomyces viridochromogenes</i>	<i>pat</i>	<i>Streptomyces viridochromogenes</i> adalah sejenis bakteria tanah gram positif dan tidak patogenik.

c) Keterangan tentang sifat dan ciri-ciri yang telah diperkenalkan atau diubah suai

Kacang soya transgenik (*Glycine max*) DAS-68416-4 telah dihasilkan melalui transformasi pengantaraan-Agrobakterium menggunakan

Agrobacterium tumefaciens strain EHA101 yang membawa vektor binari pDAB4468 bagi tujuan pemindahan dan kemasukan T-DNA ke dalam genom sel kacang soya (*cotyledonary node explants*). Fragmen T-DNA dalam plasmid mengandungi jujukan gen *aad-12* daripada *Delftia acidovorans* dan gen *pat* daripada *Streptomyces viridochromogenes*. Gen *aad-12* mengekod enzim *aryloxyalkanoate dioxygenase-12* (AAD-12) yang apabila diekspreskan dalam tumbuhan, ianya akan menukar 2,4-D kepada 2,4-dichlorophenol (DCP) herbisid yang tidak aktif. Gen *pat* mengekod enzim *phosphinothricin acetyl transferase* (PAT) yang menyahaktifkan glufosinate.

Tiada ciri lain yang telah diperkenalkan atau diubah suai di dalam kacang soya DAS-68416-4.

5. Kaedah Pengubahsuaian Genetik

Kacang soya transgenik (*Glycine max*) DAS-68416-4 telah dihasilkan melalui transformasi pengantaraan-Agrobakterium menggunakan *Agrobacterium tumefaciens* strain EHA101 yang membawa vektor binari pDAB4468 untuk tujuan pemindahan dan kemasukan T-DNA ke dalam genom sel kacang soya (*cotyledonary node explants*).

Secara ringkas, benih kacang soya (cv Maverick) telah bercambah di media basal dan *cotyledonary nodes* telah diasingkan dan dijangkiti dengan Agrobakterium. Seterusnya penghasilan dan pemanjangan pucuk dilakukan dan media perakaran telah ditambah dengan *cefotaxime*, *timentin* dan *vancomycin* untuk penyingkiran Agrobacterium. Pemilihan Glufosinat telah digunakan untuk menghalang pertumbuhan pucuk yang tidak ditransformasikan. Pucuk terpilih dipindahkan ke medium perakaran untuk pembentukan akar dan kemudian dipindahkan ke tanah campuran bagi penyesuaian anak pokok.

Terminal leaflets anak pokok terpilih telah dicat dengan glufosinat pada daunnya untuk saringan *putative transformants*. Anak pokok yang telah disaring dipindahkan ke rumah hijau untuk penyesuaian (*acclimatization*) dan kemudian daun dicat semula dengan glufosinat untuk mengesahkan semula toleransi.. Anak pokok yang masih hidup disifatkan sebagai *putative transformants*. Tumbuhan ini dianalisis pula di peringkat molekul untuk pengesahan penanda gen yang dipilih dan/atau gen yang dikehendaki. Tumbuhan T₀ dibiarkan melakukan pendebungaan sendiri dalam rumah hijau untuk penghasilan benih T1.

a) Pencirian/Pengenalpastian Pengubahsuaian

Jadual 1: Unsur-unsur genetik sisipan T-DNA daripada plasmid pDAB4468

Lokasi T-DNA yang dimasukkan pDAB4468¹	Unsur Genetik	Saiz (pasangan bas)	Penerangan
1-24	T-DNA Sempadan B	24	Pemindahan turutan DNA
25-160	Turutan Perantaraan	136	Turutan daripada Ti plasmid pTi15955 (Barker et al., 1983)
161-1326	RB7-MAR	1166	Lampiran kawasan matrik (MAR) daripada <i>Nicotiana tabacum</i> (Hall et al., 1991)
1327-1421	Turutan Perantaraan	95	Turutan daripada plasmid pENTR/D-TOPO (Invitrogen Cat. No. A10465) dan gandaan tapak pengklonan
1422-2743	AtUbi10	1322	“ <i>Arabidopsis thaliana</i> polyubiquitin UBQ10 comprising the promoter, 5' untranslated region and intron (Norris et al., 1993)”
2744-2751	Turutan Perantaraan	8	Turutan yang digunakan untuk pengklonan DNA
2752-3633	Turutan Perantaraan	882	Synthetic, versi tumbuhan-optimum pada “aryloxyalkanoate dioxygenase gene from <i>Delftia acidovorans</i> ” (Wright et al., 2007)
3634-3735	Turutan Perantaraan	102	Turutan yang digunakan untuk pengklonan DNA
3736-4192	Turutan Perantaraan	457	3' “untranslated region (UTR)” yang terdiri daripada “transcriptional terminator” dan “polyadenylation site” ke atas bingkai yang boleh dibaca 23 (ORF23) of <i>Agrobacterium tumefaciens</i> pTi15955 (Barker et al., 1983)
4193-4306	Turutan Perantaraan	114	Turutan daripada plasmid pENTR/D-TOPO (Invitrogen Cat. No. A10465) and multiple cloning sites
4307-4823	CsVMV	517	Promoter dan 5' “untranslated region” diperolehi daripada “cassava vein mosaic virus” (Verdaguer et al., 1996)
4824-4830	Turutan Perantaraan	7	Turutan yang digunakan untuk pengklonan DNA
4831-5382	pat	552	Sintetik, versi tumbuhan-optimum pada gen “phosphinotrichin N-acetyl transferase (PAT)”, dipencarkan daripada “ <i>Streptomyces viridochromogenes</i> ” (Wohlleben et al., 1988)

<i>Lokasi T-DNA yang dimasukkan pDAB4468¹</i>	<i>Unsur Genetic</i>	<i>Saiz (pasangan bes)</i>	<i>Penerangan</i>
5383–5484	Turutan Perantaraan	102	Turutan daripada plasmid pCRI2.1(Invitrogen Cat. No. K205001) and multiple cloning sites
5485–6188	AtuORF1	704	3' "untranslated region (UTR)" terdiri daripada "transcriptional terminator" dan "polyadenylation site" pada bingkai yang boleh dibaca "1 (ORF1) of Agrobacterium tumefaciens pTi15955" (Barker <i>et al.</i> , 1983)
6189–6416	Turutan Perantaraan	228	Turutan daripada Ti plasmid C58 (Zambryski <i>et al.</i> , 1982; Wood <i>et al.</i> , 2001)
6417–6440	T-DNA border A	24	Turutan yang digunakan untuk pengklonan DNA
6441–6459	Turutan Perantaraan	19	Turutan daripada Ti plasmid C58 (Zambryski <i>et al.</i> , 1982; Wood <i>et al.</i> , 2001.,)
6460–6483	T-DNA border A	24	Turutan yang digunakan untuk pengklonan DNA
6484–6770	Turutan Perantaraan	287	Turutan daripada Ti plasmid pTi15955 (Baker <i>et al.</i> , 1983)
6771–6794	T-DNA border A	24	Pemindahan turutan DNA
6795–7173	Turutan tulang belakang plasmid	379	Turutan Tulang Belakang Plasmid daripada plasmid RK2 (Stalker <i>et al.</i> , 1981)
7174–8193	Ori Rep	1020	Turutan ulangan asal daripada plasmid RK2 (Stalker <i>et al.</i> , 1981)
8194–8738	Turutan tulang belakang plasmid	545	Turutan Tulang Belakang Plasmid daripada plasmid RK2 (Stalker <i>et al.</i> , 1981)
8739–9887	Trf A	1149	Turutan ulangan asal untuk protein Trf A daripada plasmid RK2 (Stalker <i>et al.</i> , 1981)
9888–11091	Turutan tulang belakang plasmid	1204	Turutan Tulang Belakang Plasmid daripada plasmid RK2 (Stalker <i>et al.</i> , 1981)
11092–11880	Spec R	789	Turutan untuk "Spectinomycin" gen resisten (Dagert and Ehrlich, 1979)
11881–12154	Turutan tulang belakang plasmid	274	Turutan Tulang Belakang untuk pengklonan

¹ Kedudukan pasangan asal

b) Keselamatan protein yang diekspreskan

Penilaian menyeluruh ke atas keselamatan ke atas protein AAD-12 dan PAT membuktikan bahawa iaanya tidak menyebabkan apa-apa kesan toksik kepada kesihatan manusia atau haiwan dan mempunyai potensi risiko alahan yang rendah. Kacang soya DAS-444Ø6-6 yang ditanam di ladang (yang tidak disembur atau disembur dengan 2,4-D, glufosinate dan/atau glyphosate) mengekspreskan di antara 17.94 ng / mg berat kering (R3 peringkat akar) ke 78.52 ng / mg berat kering badan (V5 tisu daun) untuk protein AAD -12 dan 1.85 ng / mg berat kering (R3 peringkat akar) ke 7.80 ng / mg (V10-12 tisu daun) untuk protein PAT. Nilai yang ditunjukkan adalah sama untuk semua rawatan AAD-12 dan PAT tanpa mengira rejim racun rumpai tersebut.

Kacang soya DAS-68416-4 sebahagian besarnya adalah sama dengan kacang soya konvensional, kecuali bagi sifat toleran terhadap racun rumpai yang diperkenalkan dan ia selamat serta berkhasiat seperti kacang soya konvensional. DAS-68416-4 juga mempunyai sejarah penggunaan yang selamat. Tiada kesan buruk dikenal pasti semasa ujian lapangan yang menyeluruh dijalankan di U.S.A. dan ia telah dibenarkan untuk digunakan di 9 negara utama pengimportan dan penanaman kacang soya.

6. Penilaian Risiko Terhadap Kesihatan Manusia

a) Data Nutrisi

Analisis komposisi seperti proksimat, mineral, asid amino, asid lemak, vitamin, isoflavon, dan anti-nutrien telah dijalankan untuk menyiasat kesetaraan kacang soya DAS-68416-4 (dengan atau tanpa 2,4-D dan / atau rawatan glufosinate) berbanding dengan kawalan . Keputusan statistik tahap kesemua komposisi untuk sampel kacang soya DAS-68416-4 adalah tidak dapat dibezakan dari garis kawalan dan / atau dalam rujukan untuk kacang soya konvensional. Kesimpulannya, komposisi bagi kacang soya DAS-68416-4 adalah bersamaan dengan kacang soya konvensional.

b) Toksikologi

Potensi ketoksikan yang rendah bagi protein AAD-12 dan PAT yang terdapat dalam kacang soya DAS-68416-4 telah ditunjukkan dalam beberapa cara:

- Analisis Bioinformatik protein AAD-12 dan PAT menggunakan pencarian BLASTp dengan pangkalan data protein NCBI yang terkini tidak menemui sebarang jujukan yang serupa dengan mana-mana jujukan toksin yang diketahui berbahaya kepada manusia atau haiwan.

- Pangkalan data protein juga tidak mengenal pasti mana-mana jujukan persamaan dengan mana-mana toksin yang diketahui berbahaya kepada manusia atau haiwan.
- Kajian ketoksikan akut oral dengan AAD-12 dan protein PAT pada tahap 2000 mg AAD-12 / kg dan 5000 mg PAT / kg selepas perubahan pada ketulenan telah dijalankan pada tikus. Semua haiwan terselamat dan tiada tanda-tanda klinikal yang diperhatikan semasa kajian.
- Kestabilan haba bagi protein AAD-12 telah dinilai dengan memanaskan larutan protein selama 30 min dalam pelbagai suhu. Data menunjukkan bahawa industri pemprosesan bijirin dengan ketara telah merendahkan struktur tertier daripada protein AAD-12, lalu mengurangkan immunoreaktiviti dan seterusnya mengurangkan aktiviti enzim itu.
- Protein PAT mempunyai sejarah penggunaan secara komersial dan risikonya telah dinilai dengan mendalam di seluruh dunia serta terbukti protein PAT mudah dinaturasi oleh haba.

c) Kealergenan

Perbandingan jujukan asid amino dengan alergen yang diketahui menunjukkan bahawa protein AAD-12 dan PAT tidak berkongsi apa-apa persamaan jujukan asid amino yang signifikan dengan protein alergen yang diketahui. Lanjutan daripada ini, keputusan *in vitro*, menggunakan kajian simulasi cecair gastrik (SGF) menunjukkan bahawa protein AAD-12 mudah dicerna (tidak dikesan pada 1 minit dan 30 saat) dalam SGF. Akhir sekali, protein AAD-12 dianalisis untuk bukti glikosilasi (*glycosylation*) dan tiada karbohidrat berantai kovalen (*covalently-linked carbohydrate*) yang dikesan daripada tumbuhan yang terpilih atau mikrob. Protein PAT mempunyai sejarah penggunaan secara komersial dan risikonya telah dinilai dengan mendalam di seluruh dunia dan terbukti protein PAT mudah degradasi dalam jus pencernaan simulasi dan tidak mempunyai glikosilasi (*glycosylation*) apabila diekspreskan dalam kacang soya.

7. Penilaian Risiko Terhadap Alam Sekitar

Memandangkan permohonan ini adalah untuk mendapatkan kelulusan bagi mengimport dan menggunakan bijirin kacang soya DAS-68416-4 seperti mana-mana kacang soya yang lain, tidak termasuk penanaman kacang soya DAS-68416-4, pelepasan ke alam sekitar lebih cenderung untuk berlaku semasa pengimportan, penyimpanan dan pemprosesan bijirin kacang soya DAS-68416-4. Walau bagaimanapun, kaedah pengendalian bijirin yang moden, akan mengurangkan kehilangan bijirin ini serta peluang percambahan bijirin yang tertumpah dan perkembangan pokok kacang soya DAS-68416-4. Selain itu, maklumat yang diberi dalam permohonan ini menunjukkan bahawa kacang soya DAS-68416-4 tidak berbeza daripada kacang soya yang lain. Oleh itu, ianya tidak mungkin membawa ancaman kepada alam sekitar atau memerlukan langkah-langkah khas untuk pembendungan

8. Apakah Pelan Gerak Balas Kecemasannya?

Bijirin daripada kacang soya DAS-68416-4 adalah diimport dengan tujuan untuk makanan, makanan haiwan dan diproses sahaja dan bukan bertujuan untuk ditanam. Jika pertumbuhan berlaku ia boleh dikawal dengan mudah sama ada secara mekanikal atau dengan menggunakan racun rumpai terpilih.

Seperti yang dinyatakan sebelum ini, kacang soya DAS-68416-4 sebahagian besarnya adalah sama dengan kacang soya konvensional, kecuali bagi sifat toleransi racun rumpai yang diperkenalkan serta ia selamat dan berkhasiat seperti kacang soya konvensional. Kacang soya DAS-68416-4 juga mempunyai sejarah penggunaan yang selamat. Tiada kesan buruk dikenal pasti semasa ujian lapangan yang menyeluruh dijalankan di U.S.A. dan ia telah dibenarkan untuk digunakan di 9 negara utama pengimportan dan penanaman kacang soya.

a) Langkah-langkah Pertolongan Cemas

Tiada langkah-langkah pertolongan cemas yang khusus diperlukan sekiranya terdedah kepada produk ini.

b) Langkah-langkah untuk Mengatasi Pelepasan yang Tidak Disengajakan

Sekiranya berlaku tumpahan yang tidak disengajakan, tidak mungkin akan berlaku pertumbuhan yang tidak disengaja kerana kacang soya tidak boleh hidup tanpa bantuan manusia dan tidak mampu hidup sebagai rumpai. Jika terdapat pertumbuhan kacang soya yang tidak disengaja, ianya dengan mudah boleh dikawal dengan menggunakan racun rumpai terpilih.

c) Pengendalian dan Penyimpanan

Kacang soya DAS-68416-4 sebahagian besarnya adalah sama dengan kacang soya konvensional, kecuali bagi sifat toleransi racun rumpai yang merupakan sifat berkepentingan agronomi.. Oleh itu tiada arahan khusus yang diperlukan untuk pengendalian dan penyimpanan kacang soya DAS-68416-4 dan produknya yang diperolehi akan disimpan, dibungkus, diangkut, dikendalikan dan digunakan dengan cara yang sama seperti produk kacang soya komersial.

d) Maklumat Pelupusan

Langkah-langkah untuk rawatan dan pelupusan sisa kacang soya DAS-68416-4 adalah sama seperti konvensional kacang soya yang bukan transgenik (konvensional).

9. Bagaimanakan saya boleh memberikan komen tentang permohonan ini?

Mana-mana orang awam boleh membuat ulasan atau mengemukakan pertanyaan terhadap maklumat yang dihebahkan berkaitan dengan permohonan ini. Sebelum mengemukakan ulasan atau pertanyaan, seseorang itu haruslah meneliti maklumat yang dibekalkan berkenaan dengan permohonan tersebut. Ulasan dan pertanyaan anda tentang kemungkinan kesan atau risiko ke atas kesihatan dan keselamatan manusia dan alam sekitar yang mungkin disebabkan oleh pelepasan tersebut adalah amat dihargai. Ulasan/pertanyaan yang dikemukakan mestilah disediakan dengan teliti kerana ia akan diberi penekanan yang sama seperti permohonan oleh Lembaga Biokeselamatan Kebangsaan (LBK). Walaupun ulasan/pertanyaan tidak berasaskan kepada sains dan sebaliknya menumpu kepada kebudayaan atau nilai-nilai lain, ianya masih perlu disediakan dalam bentuk hujah yang munasabah.

Sila beri perhatian bahawa tempoh konsultasi akan berakhir pada 10 Ogos 2017 dan pandangan/ulasan bertulis perlu dikemukakan sebelum atau pada tarikh tersebut. Segala pandangan/ulasan hendaklah dialamatkan kepada:

Ketua pengarah
Jabatan Biokeselamatan
Kementerian Sumber Asli dan Alam Sekitar
Aras 1, Podium 2, Wisma Sumber Asli
No. 25, Persiaran Perdana, Presint 4
62574 Putrajaya, MALAYSIA
E-mel: biosafety@nre.gov.my
No. Faks.: 03-88904935

Sila nyatakan nama penuh, alamat dan butiran maklumat untuk dihubungi bersama-sama pandangan/ulasan yang dikemukakan.