

LEMBARAN FAKTA
PERMOHONAN UNTUK KELULUSAN BAGI PELEPASAN PRODUK
KAPAS GHB614
UNTUK PEMBEKALAN ATAU TAWARAN UNTUK MEMBEKALKAN BAGI
JUALAN ATAU PERLETAKAN DALAM PASARAN
NO RUJUKAN LBK: JBK (S) 602-1/1/29

Objektif Akta Biokeselamatan adalah untuk melindungi kesihatan manusia, tumbuhan dan haiwan, kepelbagaian alam sekitar dan biologi. Di bawah Akta Biokeselamatan, Lembaga Biokeselamatan Kebangsaan (LBK), kini sedang menilai permohonan yang dihantar oleh Syarikat Bayer Co. (Malaysia) Sdn. Bhd. untuk mendapatkan kelulusan.

1. Untuk apakah permohonan ini?

Permohonan ini adalah untuk tujuan import dan pelepasan kapas GHB614 yang diubahsuai secara genetik (GM) dan produk-produknya untuk pembekalan atau tawaran membekalkan bagi penjualan atau perletakan dalam pasaran.

2. Apakah tujuan import dan pelepasan ini?

Tujuan import dan pelepasan ini adalah untuk kegunaan langsung sebagai makanan, makanan haiwan dan pemprosesan (FFP) kapas GHB614 dan produk-produknya. Penggunaan itu berkaitan dengan produk akhir kapas GHB614 di dalam makanan (asasnya minyak) dan makanan haiwan. Kapas GM tersebut bukanlah bertujuan untuk penanaman di Malaysia

3. Bagaimanakah kapas GHB614 ini diubahsuai?

Kapas GHB614 telah diubahsuai secara genetik (GM) menjadikannya toleran terhadap racun rumpai glifosaf yang berperanan menyahaktifkan EPSPS (5 enolpyruvylshikimate-3-fosfat synthase) iaitu enzim yang penting untuk sintesis protein dalam tumbuh-tumbuhan. Daya toleran ini diperolehi melalui penyelitangan *2mepsps* (pengubahsuaian gen *epsps* dari jagung), yang menyebabkan perubahan asid amino dalam protein 2mEPSPS. Perubahan asid amino ini menjadikan kepekatan protein 2mEPSPS berkurangan untuk tindakbalas glifosaf. Keadaan ini membolehkan enzim terus berfungsi untuk sintesis protein lain dalam tumbuhan dalam kehadiran racun rumpai tersebut.

4. Ciri-ciri pokok kapas GHB614

(a) Maklumat tentang organisma induk

Kapas mempunyai sejarah penanaman dan penggunaan selamat sejak abad kesepuluh. Pokok *Gossypia* berasal dari kawasan tropika dan subtropika. Kapas pada umumnya tidak ditanam di iklim

sederhana tetapi ia cenderung untuk menjadi tanaman di hemisfera selatan. Taburan geografi untuk tanaman kapas terletak di antara 42° Latitud N. (Asia Tengah, China) dan 30° Latitud S. (Australia, Argentina Utara). Oleh itu, kapas yang merupakan tanaman tropika, tetapi pada masa ini lebih 50% daripada pengeluaran dunia ditanam di zon sederhana di atas 30° Latitud N., di mana tiga daripada empat (India, Amerika Syarikat, China dan Pakistan) pengeluar utama bertapak.

Kapas ditanam secara meluas dan mempunyai sejarah penggunaan yang selamat. Kapas tidak dianggap berbahaya atau patogen kepada manusia; bagaimanapun ia menghasilkan gossypol dan asid lemak cyclopropenoid (CPFA), yang merupakan bahan toksik semulajadi.

Gossypol adalah bahan terpenoid didapati secara semula jadi dalam banyak spesies *Gossypium* termasuk kapas dan terdapat di seluruh bahagian tumbuhan, termasuk benih. Aldehid terpenoid yang terdapat pada pigmen kelenjar merupakan sumber penting dalam kerintangan terhadap herbivor dan serangga. Kerosakan oleh banyak serangga perosak, tikus dan burung adalah lebih ketara pada kapas tidak berkelenjar. Gossypol boleh menyebabkan keracunan masalah keracunan namun tahap gossypol dalam makanan dan makanan produk kapas hendaklah pada tahap minima. Sensitiviti haiwan terhadap gossypol adalah berbeza antara spesies, di mana ruminan adalah spesies paling kurang sensitif. Kandungan gossypol bebas yang merupakan sebatian toksik telah digunakan oleh ramai pakar pemakanan sebagai panduan untuk membuat cadangan mengenai pemakanan produk kapas. Minyak kapas yang masuk ke dalam rangkaian makanan manusia adalah bebas daripada gossypol.

Asid lemak cyclopropenoid (0.1 - 1.3% daripada minyak kapas), sterculic (C19) dan asid malvalic (C18), adalah asid lemak unik yang biasa terdapat di kapas. Asid ini telah digunakan dalam ujian Halpen bagi pencirian minyak kapas selama hampir 100 tahun. Tahap asid lemak cyclopropenoid dalam makanan dan makanan haiwan perlu dikurangkan kerana ia boleh menyebabkan kesan yang tidak diingini. Asid lemak cyclopropenoid menghalang penyahtepuan daripada stearik ke asid oleik, yang mengubah kebolehtelapan membran. Asid ini sebahagian besarnya dinyahaktifkan atau dikeluarkan daripada minyak secara penghidrogenan atau semasa penyahbauran pada suhu 230°C - 235°C.

(b) Maklumat sebagai organisma penderma

Kapas GHB614 mengandungi gen *2mepsps* yang diperolehi daripada jagung, *Zea mays*. Jagung (*Zea mays* L.), merupakan tanaman bijirin ketiga terbesar di dunia, selepas gandum dan beras dan ditanam di lebih 25 negara seluruh dunia. Jagung mempunyai sejarah penggunaan selamat yang panjang untuk kegunaan sebagai makanan dan makanan haiwan. Tanaman jagung telah ditanam untuk 8000 tahun di Mexico dan Amerika Tengah dan selama 500 tahun di Eropah. Jagung telah

dianggap sebagai bermanfaat dan selamat untuk dimakan untuk haiwan dan manusia untuk beberapa generasi, samada mentah atau selepas pemprosesan. Kesimpulannya adalah jagung mempunyai sejarah penggunaan selamat yang panjang. Ia juga dianggap selamat sebagai sumber gen.

Jagung secara semulajadi mengandungi beberapa anti-nutrien dan alergen. Apabila dibandingkan dengan bijirin lain, sebatian anti-nutrien dalam jagung adalah sedikit. Dua anti-nutrien yang berkaitan adalah asid phytic dan enzim inhibitor. Asid phytin tertumpu dalam pecahan dedak. Bagi inhibitor iaitu trypsin-inhibitor dan chymotrypsin-inhibitor, tahap kedua-dua inhibitor tersebut dalam bijirin jagung adalah sangat rendah dan tertakluk kepada pencernaan haba. Bagi anti-nutrien dalam jumlah yang tidak ketara, ianya akan dicerna semasa pemprosesan biji jagung yang biasa dilakukan.

(c) Keterangan jenis-jenis dan ciri-ciri yang telah diperkenalkan atau diubahsuai

Ringkasan elemen-elemen genetik yang diperkenalkan

Kod	Nama	Jenis	Promoter, lain-lain	Penamat	Salinan	Bentuk
Epsps	5-enolpyruvyl shikimate-3-phosphate Synthase	HT	Promoter region of the histone H4 gene from <i>Arabidopsis thaliana</i> .	3' untranslated region of the histone H4 gene from <i>A. thaliana</i>	1	double-mutated <i>epsps</i> gene from <i>Z. mays</i>

5. Kaedah Pengubahsuaian

Kapas GHB614 telah dibangunkan melalui transformasi pengantara *Agrobacterium* terhadap varieti kapas Coker 312, dengan menggunakan transformasi vektor pTEM2. Eksplant kapas didedahkan kepada kultur *Agrobacterium tumefaciens* yang mengandungi plasmid pTEM2. Selepas *co-culture*, sel-sel kapas telah dibangunkan kepada tumbuhan dengan menggunakan media pertumbuhan yang sesuai yang mengandungi 500mg / L claforan untuk menghapuskan sisa *Agrobacterium*, dan kemudian pemilihan dibuat dengan menggunakan glifosat.

Tumbuhan yang berkembang telah dipindahkan ke *greenhouse*, untuk ujian toleran terhadap glifosat, seterusnya berbunga dan menghasilkan biji benih. Pengesahan transformasi dilakukan secara pengasaian aktiviti enzim 2mEPSPS di mana glifosat dikenakan ke daun tumbuhan serta *Polymerase Chain Reaction (PCR)* dan analisis pemblotan Southern.

Vektor pTEM2, yang digunakan dalam transformasi kapas GHB614, mengandungi satu kaset gen dalam segmen sempadan kiri dan kanan (T-DNA). Jujukan gen *2mepsps* yang berasal dari gen *epsps* jagung (*Zea mays*) dengan mutasi dua nukleotida tunggal yang dihasilkan secara *site directed*

mutagenesis. Satu kodon methionine telah ditambah di hujung N-terminal jujukan protein 2mEPSPS untuk memulihkan tapak optima belahan peptida plastid transit. Mutasi dua nukleotida tunggal ini telah menghasilkan 47 kDa protein dengan fungsi enzim biasa dan pengurangan afiniti untuk glifosat.

Promoter Ph4a748At dan intron h3At adalah regulator yang digunakan untuk mengawal pengekspresan gen 2mepsps dalam kapas dan berasal dari gen *histone* H4 daripada tumbuhan *Arabidopsis thaliana*. TPotpC mengkod peptida transit, diperolehi daripada gen jagung dan bunga matahari dan mensasarkan protein matang kepada plastid yang terletak di dalam sel. Terminator 3'histonAt dari *Arabidopsis thaliana* sepadan dengan isyarat polyadenylation adalah penting untuk menamatkan transkripsi gen diperkenalkan.

(a) Ciri-ciripengubahsuai

Analisis pembloatan Southern telah dijalankan untuk menentukan bilangan penyelitan, bilangan salinan, integriti kemasukan kaset gen 2mepsps, dan menilai kehadiran atau ketiadaan jujukan *backbone* plasmid. Sampel DNA genomik dari kapas GHB614 kapas konvensional dipencilkan dan dicerna dengan sembilan enzim pembatas, dipisahkan pada gel agarose dan seterusnya analisis pembloatan Southern. Penentuanbilangan dan salinanfragmen DNA yang diperkenalkan, pemisahan fragmen DNA telah dipindahkan kepada membran dan diikuti penghibridan menggunakan radioaktif berlabel yang berbeza: empat prob yang mengandungi setiap jujukan DNA yang digunakan untuk transformasi, dan prob T-DNA.

Berdasarkan perbandingan antara saiz dan corak fragmen DNA dengan saiz fragmenjangkaan daripada pencernaan DNA genomik, penyelitan satu tapak jujukan transgenik dan unik hadir dalam kapas GHB614.

Penyusunan unsur-unsur genetik dalam fragmen DNA yang ditransformasi ke dalam kapas GHB614 turut dicirikan menggunakan analisis PCR dengan memperbanyakkan tiga kawasan bertindih DNA yang merangkumi keseluruhan panjang sisipan. Produk PCR yang dihasilkan, diikuti PCR DNA genomik dari kapas GHB614, semua saiz yang diharapkan.

(b) Keselamatan protein yang diekspreskan

Penggunaan produk kapas oleh manusiaadalah terhad kepada minyak bertapis. Oleh kerana hampir tiada protein terdapat dalam minyak yang diekstrak daripada biji, potensi untuk manusia terdedah kepada risiko adalah sangat rendah. Seterusnya produk gen diperkenalkan tidak dikesan di dalam minyak bertapis yang dihasilkan daripada kapas transgenik, maka tidak akan ada pendedahan protein ini manusia bagi penggunaannya secara normal. Tambahan pula, jumlah protein

2mEPSPS yang hadir di dalam biji yang dijadikan makanan haiwan adalah terlalu sedikit untuk menyebabkan sesuatu risiko.

6. Penilaian risiko terhadap kesihatan manusia

(a) Data nutrisi

Analisis kandungan biji benih telah dijalankan ke atas kapas GHB614 dan dari bukan GM, Coker 312, yang ditanam di tapak ujian biasa bagi pengeluaran pertanian komersial.

Sembilan ujian lapangan telah dijalankan pada tahun 2005 di tapak yang mewakili kawasan utama kapas di Amerika Syarikat tenggara. Pada setiap tapak ujian, enam plot bagi transgenik kapas GHB614 dan tiga plot bukan transgenik Coker 312 telah ditanam. Tiga daripada enam plot yang mengandungi kapas GHB614 disembur tiga kali dengan racun rumpai glifosat (0.75 lb bahan aktif / ekar). Analisis komposisi sampel kapas termasuk proximates (protein, lemak, abu dan kelembapan), serat bahan pencuci asid (ADF), serat bahan pencuci neutral (NDF), mineral (kalsium, besi, magnesium, fosforus, kalium dan zink), asid amino, asid lemak, vitamin E (alfa tokoferol) dan karbohidrat telah dilaksanakan. Di samping itu, tiga anti-nutrien yang dikenali terdapat dalam kapas (gossypol, asid lemak cyclopropenoid dan asid phytic) telah dianalisa. Kaedah analisis adalah berdasarkan prosedur diiktiraf di peringkat antarabangsa (cth kaedah AOAC Antarabangsa) atau kaedah lain yang diterbitkan.

Tiada perbezaan biologi yang penting diperhatikan di antara kapas GHB614 dengan konvensional. Perbezaan statistik yang signifikan dalam beberapa jujuk utama telah dinyatakan, namun perbezaan yang diamati adalah kecil, dan dalam setiap kes tahap yang diperhatikan adalah dalam julat nilai yang dilaporkan dalam jenis kapas konvensional. Komposisi kapas diketahui berbeza dengan ketara pada tapak tanaman, keadaan pertanian dan musim pengeluaran, dan perbezaan yang dilaporkan di sini kemungkinan besar mencerminkan kepelbagaian biologi normal. Oleh itu, makanan dari kapas GHB614 dianggap bersamaan dengan kandungan makanan jenis kapas konvensional.

(b) Toksikologi

Oleh kerana hanya minyak yang diproses dari kapas GHB614 yang akan digunakan untuk manusia, dan tiada protein yang dikandung maka tiada kebimbangan ketoksikan tambahan mengenai produk ini.

Kajian bioinformatik bagi jujukan protein 2mEPSPS telah mengesahkan tiada apa-apa persamaan dengan jujukan asid amino dengan toksin protein yang dikenali. Tambahan pula, dalam kajian yang dijalankan dengan kapas GHB614, protein 2mEPSPS itu dimasukkan dengan dos tunggal 2000 mg protein / kg berat badan kepada 5 tikus OF1 betina.

Kumpulan kedua tikus betina menerima dos albumin serum lembuyang sama sebagai kawalan negatif. Semua tanda-tanda klinikal diperhatikan setiap hari selama lima belas hari dan berat badan diukur setiap minggu. Akhirnya, semua haiwan dibedah untuk pemeriksaan makroskopik. Tidak ada tanda-tanda klinikal, mortaliti atau kesan rawatan yang berkaitan pada berat badan tikus OF1 betina diperhatikan semasa kajian ini. Berdasarkan penemuan ini, kesimpulannya bahawa tiada ketoksikan oral ditunjukkan dalam tikus pada dos yang sangat tinggi 2000 mg / kg berat badan.

Bukti menunjukkan bahawa protein 2 EPSPS tidak toksik kepada manusia.

(c) Kealergenikan

Kajian bioinformatik dengan jujukan protein 2mEPSPS telah mengesahkan tiada apa-apa persamaan dengan jujukan asid amino bagi alergen protein yang dikenali. Selain itu, salah satu kriteria untuk menilai potensi kealergenikan adalah untuk menentukan kestabilan protein novel dalam keadaan mensimulasikan penghadaman manusia. Protein yang cepat dicernakan dalam keadaan sedemikian adalah dianggap kurang terdorong untuk terlibat dalam memperlihatkan tindak balas alahan. Protein 2mEPSPS adalah tertakluk kepada kajian penghadaman menggunakan simulasi cecair gastrik manusia (SGF) yang mengandungi pepsin dan simulasi cecair usus (SIF) yang mengandungi pancreatin porcine, yang merupakan campuran enzim termasuk amilase, trypsin, lipase, ribonuclease dan protease. Dalam SGF (dengan pepsin), tiada protein 2mEPSPS atau sebahagiannya yang diperhatikan dalam tempoh 30 saat dan seterusnya. Dalam SIF, jalur protein 2mEPSPS hanya hampir tidak kelihatan walaupun pada masa sifar. Pada setiap masa pengesanan berikutnya, tiada protein 2mEPSPS atau sebahagiannya yang kelihatan. Bukti menunjukkan bahawa protein 2mEPSPS tidak mungkin menjadi alahan pada manusia.

Oleh kerana hanya minyak yang diproses dari kapas GHB614 yang akan digunakan untuk manusia, dan tiada protein yang dikandung makutiada kebimbangan kealergenikan tambahan mengenai produk ini. Kapas GHB614 dianggap selamat seperti kapas bukan GM.

7. Penilaian risiko terhadap alam sekitar

Permohonan ini tidak meliputi pelepasan ke alam sekitar. Permohonan ini bertujuan hanya merangkumi import produk-produk kapas GHB614 dari negara-negara di mana kapas tersebut sudah diluluskan dan ditanam secara komersial, dan yang mana boleh memasuki Malaysia sebagai makanan atau makanan haiwan atau untuk pemprosesan makanan berikutnya.

8. Apakah tindak balas kecemasan?

Biji kapas GHB614 adalah bertujuan untuk diimport bagi pemprosesan. Walau bagaimanapun, produk GHB614 yang mungkin masuk ke dalam Malaysia adalah dalam bentuk yang diproses seperti minyak atau makanan. Biji ini boleh berdaya hidup, tetapi ia bukan bertujuan untuk dijadikan benih penanaman kerana keadaan di Malaysia tidak optimum untuk pertumbuhan. Sekiranya terdapat pertumbuhan, kaedah pengesanan khusus telah dibangunkan dan boleh didapati secara komersial untuk mengenal pasti produk yang dihasilkan daripada event GHB614. Seperti pokok kapas konvensional, pokok kapas GHB614 ini juga sensitif kepada racun selain glifosat dan boleh dikawal atau dihapuskan sama ada oleh racun selain daripada glifosat atau pemusnahan mekanikal.

Biji yang berasal dari pokok kapas GHB614 ini dari segi komposisinya adalah bersamaan dengan pokok kapas konvensional. Pokoknya bertindak secara agronomi, sama seperti kapas konvensional kecuali menunjukkan toleransi terhadap racun glifosat. Sekiranya kesan tidak baik dilaporkan dan disahkan, tindakan susulan yang sewajarnya akan diambil untuk siasatan dan jika disahkan, tindakan sewajarnya akan diambil.

(a) Langkah-langkah kecemasan

Tiada langkah kecemasan khas diperlukan apabila terdedah kepada produk ini.

(b) Langkah-langkah pelepasan tidak sengaja

Tiada langkah khusus diperlukan terhadap tindak balas kepada pelepasan tidak sengaja. Benih yang tertumpah perlu disapu, dikaut atau divakum dengan cara betul bagi mengelakkan habuk dan bahaya debu yang berkaitan. Semasa pemprosesan industri, biji kapas GHB614 ini tidak dapat dibezakan dari biji kapas konvensional dan tidak memerlukan rawatan khusus atau tambahan berbanding dengan oilseed rape konvensional.

(c) Pengendalian dan penyimpanan

Tiada prosedur pengendalian khas diperlukan untuk produk ini. Untuk kapas GHB614 dan produk-produknya, penyimpanan dan pengendalian yang sama boleh digunapakai sepertimana untuk kapas konvensional.

Tiada prosedur penyimpanan khas diperlukan untuk produk ini. Biji benih disimpan sebagai mana-mana produk kapas yang lain.

(d) Pertimbangan untuk pelupusan

Langkah-langkah yang diambil untuk pelupusan sisa dan rawatan bagi kapas konvensional adalah sah untuk kapas GHB614.

9. Bagaimanakah boleh mengemukakan komen tentang permohonan ini?

Sesiapa sahaja boleh mengemukakan komen atau mengajukan pertanyaan mereka mengenai permohonan ini secara maklumat pemberitahuan awam. Sebelum mengemukakan komen atau pertanyaan, anda perlu mengkaji maklumat yang diberikan terlebih dahulu. Komen dan pertanyaan anda tentang kemungkinan apa-apa kesan/risiko kepada kesihatan dan keselamatan orang ramai dan alam sekitar yang mungkin timbul oleh pelepasan yang dicadangkan amatlah dihargai. Penghantaran komen atau pertanyaan perlulah disediakan dengan berhati-hati kerana ia akan diberi penelitian yang sama seperti permohonan oleh LBK. Penghantaran komen dan penjelasan pertanyaan haruslah menyumbang kepada penilaian LBK. Jika penghantaran tidak berasaskan sains, dan memberi tumpuan kepada nilai-nilai budaya atau lain-lain, ia harus dilakukan dalam bentuk hujah yang berasas.

Sila ambil perhatian bahawa tempoh rundingan ditutup pada 1 Ogos 2016 dan penyerahan secara bertulis adalah diperlukan sebelum tarikh tersebut. Penyerahan hendaklah dialamatkan kepada:

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

Sila berikan nama penuh, alamat dan nombor telefon bersama permohonan anda.