บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

แนวคิดและทฤษฎี

ความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีในปัจจุบันทำให้เกิดการพัฒนาสร้างพืชจำลองพันธุ์ (Transgenic Plant) ซึ่งเป็นการให้กำเนิดพันธุ์พืชชนิดใหม่ที่มีคุณลักษณะสอดคล้องตามวัตถุประสงค์ของนักปรับปรุงพันธุ์พืชอันนำไปสู่การจดสิทธิบัตรพันธุ์พืชใหม่และการขยายตัวทางการค้าของพืชจำลองพันธุ์ในหลายประเทศทั่วโลก ถั่วเหลืองเป็นพืชหลักชนิดหนึ่งในบรรดาพืชจำลองพันธุ์ และเป็นสินค้าวัตถุดิบที่ประเทศไทยนำเข้า อย่างต่อเนื่องเป็นมูลค่าสูงมากกว่า 1 แสนตันในแต่ละปี โดยเฉพาะเมล็ดถั่วเหลือง (Soybean grain) ซึ่งนำเข้ามาเป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมน้ำมันพืช และกากถั่วเหลืองในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ซึ่งจำเป็นต้องนำเข้าจาก อาร์เจนตินา บราซิล รวมทั้งสหรัฐอเมริกา ซึ่งเป็นประเทศที่มีการผลิตพืชจำลองพันธุ์ จึงเป็นการยากที่จะหลีกเลี่ยงไม่ให้ถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ปนเข้ามาสู่ตลาดในประเทศ จึงมีความเป็นไปได้ว่าถั่วเหลืองเหล่านี้มีโอกาสหลุดรอดเข้าสู่ระบบการผลิตของเกษตรกร แม้ว่าผลการตรวจสอบความปลอดภัยของโดยหน่วยงานในสหรัฐอเมริกา จะแสดงว่าถั่วเหลืองจำลองพันธุ์มีความปลอดภัยในระดับที่ยอมรับได้และได้รับอนุญาตให้เผยแพร่และวางจำหน่ายในประเทศสหรัฐอเมริกา และเม็กซิโก แต่มิได้หมายความว่าปราศจากความเสี่ยงและผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมโดยสิ้นเชิงและเนื่องจากสภาพแวดล้อมในแต่ละประเทศมีลักษณะเฉพาะ ชนิดพันธุ์และปฏิสัมพันธ์ระหว่างสิ่งมีชีวิต เงื่อนไขของสภาพแวดล้อมของแต่ละท้องถิ่นก็มีความแตกต่าง ดังนั้นการศึกษาโอกาสการปนพันธุ์ ความเสี่ยงในการไหลเวียนของยีนและผลกระทบต่อความปลอดภัยของสิ่งแวดล้อมของประเทศจึงมีความสำคัญ

หลักการของ Neil Postman (Postman 's principle) Bertrand, et al. (1997) แสดงให้มุมมองต่างๆของเทคโนโลยีในการสร้างพืชจำลองพันธุ์ทั้งในด้านดีและด้านเสีย ในด้านดีเทคโนโลยีจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิต เช่น ความสามารถในการต้านทานโรค ยาปราบวัชพืชและยาฆ่าแมลง เพิ่มจำนวนผลผลิตเพื่อแก้ปัญหาการขาดแคลนอาหารและโรคภัยที่เกิดขึ้นกับมนุษย์ แต่เทคโนโลยีนี้มิได้ปราศจากความเสี่ยงโดยทีเดียว มีความเป็นไปได้ที่ยีนในพืชจำลองพันธุ์สามารถถ่ายทอดไปสู่สิ่งมีชีวิตในสปีชี่ส์อื่น หรือพืชพันธุ์ท้องถิ่น ซึ่งอาจเกิดปัญหาการต้านทานโรคหรือยาฆ่าแมลงที่ไม่สามารถควบคุมปริมาณได้ รวมถึงแมลงบางชนิดเช่นจำพวกแมลงปีกแข็งที่กินพืชเหล่านี้เป็นอาหาร อาจพัฒนาสร้างภูมิต้านทานต่อยาฆ่าแมลงได้มากยิ่งขึ้น ขณะเดียวกันปริมาณผลผลิตที่เพิ่มขึ้นนั้นอาจนำไปสู่การสูญเสียทางเกษตรกรรมครั้งใหญ่เมื่อได้รับอิทธิพลจากภาวะแห้งแล้งหรือการคัดเลือกพันธุ์ตามธรรมชาติ

การประเมินความเสี่ยงของพืชจำลองพันธุ์จะต้องศึกษาเป็นรายกรณีแต่ละกรณีไป ไม่สามารถนำผลการศึกษาจากสิ่งแวดล้อมหนึ่งมาทดแทนกับอีกสิ่งแวดล้อมหนึ่งได้ ปกติจะสามารถตรวจสอบได้โดยศึกษาจากชุดคาสเซ็ทของยีน ซึ่งจะประกอบด้วยส่วนควบคุมการแสดงออกและตัวยีนเป้าหมาย รวมถึงผลิตผลของยีนในแง่มุมต่างๆทั้งในแง่ความเหมือนหรือความแตกต่าง ความปลอดภัยในการบริโภค ความปลอดภัยต่อสภาพแวดล้อม โดยศึกษาทั้งจาก Phenotype จากการวิเคราะห์ทางชีวเคมี การวิเคราะห์พฤติกรรมทางชีววิทยา (Biological behavior analysis) ซึ่งรวมถึงการกระจายตัวของละอองเรณูและการกระจายตัวของเมล็ด วิเคราะห์ผลกระทบทางสิ่งแวดล้อม วิเคราะห์ผลกระทบต่อ Mutualistic interaction การไหลเวียนของยีน เป็นต้น (Bazin and Lynch, 1994)

เมื่อพิจารณาเฉพาะปัจจัยบางประการ เช่น การไหลเวียนของยีน พบว่าโครงสร้างแต่ละส่วนของยีน เช่น ส่วนควบคุมการแสดงออกของยีน ตัวยีนเป้าหมาย ส่วนควบคุมการหยุด อาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับการไหลเวียนของยีนด้วยอัตราที่แตกต่างกัน ปกติการแสดงออกของยีนจะอยู่ภายใต้การควบคุมของส่วนควบคุมการแสดงออกของยีนเป็นหลัก วิทยานิพนธ์นี้มุ่งเน้นศึกษาโอกาศในการปนพันธุ์ของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ ติดตามการไหลของยีนจากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ไปสู่สภาพแวดล้อมโดยอาศัยการตรวจจับส่วนควบคุมการแสดงออกของยีน CaMV 35S-Promoter โดยศึกษาการไหลของยีนที่ทั้งในรูปเมล็ด การเกิดลูกผสมระหว่างสายพันธุ์ถั่วเหลือง และวัชพืชตระกูลถั่ว ตลอดจนการไหลของยีนจากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ไปสู่จุลชีพ

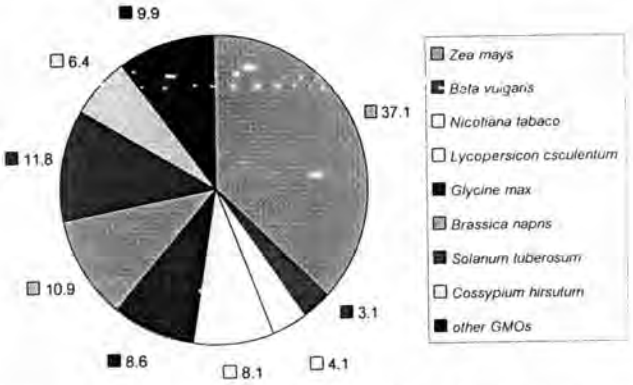
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สิ่งมีชีวิตและพืชจำลองพันธุ์

สิ่งมีชีวิตจำลองพันธุ์ หรือ GMOs (Genetically Modified Organisms) หมายถึง สิ่งมีชีวิตที่ได้รับการดัดแปลงทางพันธุกรรมหรือการจำลองพันธุ์ของสิ่งมีชีวิตโดยกรรมวิธีพันธุวิศวกรรม ซึ่งใช้วิธีการตัดต่อยีนโดยนำยีนแปลกปลอม (Foreign gene) ถ่ายทอดเข้าสิ่งมีชีวิตโดยใช้พาหะเป็นเครื่องนำพาและถ่ายทอด (กรมวิชาการเกษตร,สำนักวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ, 2543)

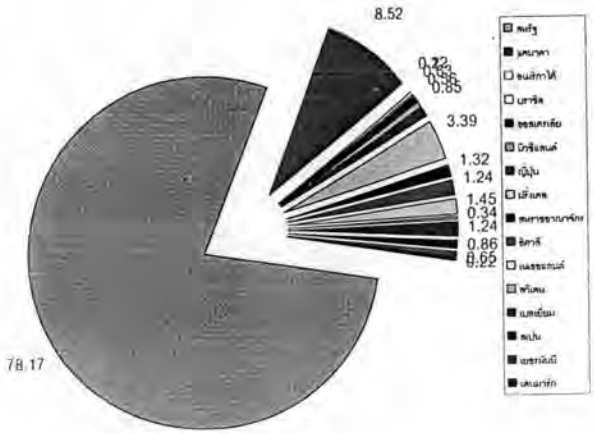
ด้วยนิยามเดียวกัน GMPs (Genetically Modified Plants) จึงหมายถึง พืชที่ได้รับการเปลี่ยนแปลงพันธุกรรม หรือตัดแต่งยีนด้วยเทคนิคพันธุวิศวกรรม นำเอายีนจากสิ่งมีชีวิตหนึ่งไปถ่ายฝากให้กับพืช โดยใช้พาหะเป็นเครื่องนำพา การถ่ายทอดทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่างไปจากพันธุ์ที่มีในธรรมชาติ เพื่อให้ได้พืชที่มีคุณลักษณะหรือคุณสมบัติตามที่ต้องการ

จากข้อมูลของ OECD ในเดือน ก.พ. 2000 แสดงให้เห็นว่า 98.64% ของสิ่งมีจำลองพันธุ์เป็นพืช ทำให้บางครั้ง GMOs จึงหมายถึงพืชจำลองพันธุ์ได้ พืชจำลองพันธุ์ที่ตรวจสอบแล้วว่ามีจำนวนตัวอย่างมากกว่า 1 % ของจำนวนตัวอย่างสิ่งมีชีวิตจำลองพันธุ์ทั้งหมดเป็นดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ชนิดและสัดส่วนของพืชจำลองพันธุ์ที่สำคัญที่สร้างขึ้นในปัจจุบัน ตัวเลขแสดงเปอร์เซ็นต์ตัวอย่างคำนวณจากจำนวนตัวอย่างของพืชแต่ละชนิดเทียบกับจำนวนสิ่งมีชีวิตจำลองพันธุ์ทั้งหมด

พืชเหล่านี้ส่วนหนึ่งจะผ่านการประเมินและได้รับอนุญาตให้มีการผลิตและจำหน่ายเป็นการค้า จากข้อมูลของ APHIS สหรัฐอเมริกาเมื่อ 1 ธ.ค. 1999 พบพืชจำลองพันธุ์ทดสอบภาคสนามในแปลงทดสอบกว่า 22,000 แห่ง รวม 52 ชนิด พืชกลุ่มนี้มีทั้ง ธัญพืช พืชเส้นใย พืชตระกูลถั่ว พืชน้ำมัน พืชผัก ผลไม้ไม้ป่าและพืชอาหารสัตว์ โดยมีสหรัฐอเมริกาเป็นประเทศที่มีการทดสอบพืชจำลองพันธุ์ภาคสนามมากที่สุด ดังภาพที่ 11



ภาพที่ 2 ประเทศที่มีการทดสอบสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรมภาคสนาม

ประโยชน์และผลกระทบของพืชจำลองพันธุ์

การสร้างพืชจำลองพันธุ์มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้สิ่งมีชีวิตที่มีคุณลักษณะหรือคุณสมบัติตามที่ต้องการ ตัวอย่างเช่น ปรับปรุงคุณค่าทางโภชนาการของอาหารให้สูงขึ้น พืชที่มีความทนทานต่อโรคศัตรูพืชและแมลง ทนทานต่อความแห้งแล้งและอุณหภูมิสูงหรือต่ำ ยืดระยะเวลาการสุกของผักและผลไม้ การให้วัคซีนแก่มนุษย์ในรูปของผักที่กินได้ สามารถทำให้ผลผลิตต่อไร่ของพืชเพิ่มขึ้น ได้ผลผลิตที่ต้องการในเวลาอันสั้นไม่ขึ้นกับฤดูกาลได้ผลที่ถูกต้องและแม่นยำ มีการคลาดเคลื่อนน้อยกว่า ตลอดจนปริมาณผลผลิตที่ได้สามารถเทียบเท่ากับวิธีเดิมโดยใช้พื้นที่ต่ำกว่าเวลาน้อยกว่า เทคโนโลยีนี้จึงมีประโยชน์อย่างมาก และมีการนำมาประยุกต์ใช้ในวงการต่างๆทั้งในด้านการเกษตร อาหารและยา (สำนักวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ, กรมวิชาการเกษตร, 2543)

อย่างไรก็ตามการสร้างพืชจำลองพันธุ์แม้จะมีคุณประโยชน์มาก แต่การพัฒนาการตัดต่อยีนทำให้เกิดประเด็นปัญหาที่เป็นข้อถกเถียงของนักวิทยาศาสตร์ กลุ่มผู้อนุรักษ์และผู้บริโภคทั่วโลก ประเด็นความปลอดภัยทางชีวภาพดังกล่าวได้แก่ ผลกระทบโดยตรงต่อสุขภาพของมนุษย์ พืช สัตว์ และผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

ปิยะศักดิ์ ซอุ่มพฤกษ์ (2543) แจกแจงผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมเป็น 2 กรณีคือ ประเด็นปัญหาการถ่ายทอดยีนในแนวระนาบ (Horizontal gene flow) จากพืชจำลองพันธุ์ไปสู่สิ่งมีชีวิตอื่นในระบบนิเวศ และผลกระทบโดยตรงของยีนเป้าหมายต่อระบบนิเวศ ทั้ง 2 กรณีส่งผลกระทบไปสู่วิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตในระยะยาว

การถ่ายทอดยีนในแนวระนาบ หรือการไหลของยีน สามารถเกิดได้ทั้งกรณีกลไกที่ง่ายและกลไกที่ซับซ้อน กลไกที่ง่าย ได้แก่ การผสมข้ามระหว่างพืชจำลองพันธุ์กับพืชปกติที่อยู่ในสกุลใกล้เคียงกัน ผ่านการถ่ายทอดละอองเรณูกลไกที่ซับซ้อน ได้แก่การถ่ายทอดยีนไปสู่สิ่งมีชีวิตต่างชนิด

Traavik, T. (1999) พบว่ายีนต้านทานยาปราบวัชพืชที่ตัดต่อเข้าสู่พืช *Arabidopsis* จะหลุดออกและถ่ายทอดไปยังสิ่งมีชีวิตอื่นได้ง่ายกว่ายีนเดิม ที่ได้จากการทำ mutagenesis การถ่ายทอดยีนในแนวระนาบจากพืชจำลองพันธุ์ไปยังพืชอื่นและหรือแบคทีเรียและรารอบรากพืชสามารถเกิดขึ้นได้ ยีนต้านทานยาปฏิชีวนะคานามัยซินจากทั้งมันฝรั่งจำลองพันธุ์ ยาสูบจำลองพันธุ์ Oil rape seed จำลองพันธุ์ และมะเขือเทศจำลองพันธุ์ สามารถถ่ายไปยังแบคทีเรีย *Acinetobacter* ได้โดยมีอัตราการถ่ายทอด 2500 copy ต่อโอกาสการถ่าย 1 ครั้ง (Hoffman et. al.,1994 และ Gebhard and Smalla,1998)

Dale (1997) แนะนำแนวคิดในการประเมินความเสี่ยงโดยมุ่งเน้นการวัดผลกระทบเชิงปริมาณ ในรูปการวัดประสิทธิภาพของผลผลิต และโอกาสที่ยีนจะถ่ายทอดไปสู่สิ่งมีชีวิตอื่น

Michael (1997) รายงานการเพิ่มปริมาณการปลูกพืชจำลองพันธุ์ต้านทานยาปราบวัชพืช เป็น 57 % และรายงานผลการศึกษาความเสี่ยงที่พืชจำลองพันธุ์จะผสมข้ามพันธุ์ไปยังพืชพื้นเมือง และพืชป่าที่มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรม ในลักษณะ gene introgression และผลดังกล่าวอาจทำให้เกิดการสูญเสียทางพันธุกรรม (genetic erosion) ได้ (Rissler and Mellon, 1996.)

ในพืชจำลองพันธุ์ เช่น มันฝรั่ง หรือฝ้ายดัดแปลงพันธุกรรมที่มียีน *Bt* ของบริษัทมอนซานโต้ มียีนต้านทานยาปฏิชีวนะคานามัยซินเป็นยีนบ่งชี้ (marker gene) ยีนต้านทานยาปฏิชีวนะนี้อาจจะถ่ายทอดไปสู่เชื้อโรค เป็นสาเหตุให้เกิดอันตราย และไม่สามารถใช้ยาปฏิชีวนะธรรมดาควบคุมโรคได้อีกต่อไป

จากหลักฐานแสดงให้เห็นว่า ดีเอ็นเอสามารถมีชีวิตรอดในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ และสามารถเพิ่มจำนวนได้ใน Somatic cell (Schubbert et.al., 1997 และ Schubbert et.al., 1994) การค้นพบทางวิทยาศาสตร์ของ Hoffman และคณะในปีค.ศ.1994 แสดงให้เห็นว่า เชื้อรา *Aspergillus niger* สายพันธุ์ธรรมชาติที่เลี้ยงรวมกับพืชจำลองพันธุ์ที่มียีนต้านทานยาปฏิชีวนะ

ความเสี่ยงในการถ่ายทอดยีนต้านทานยาปฏิชีวนะจากพืชจำลองพันธุ์เป็นอันตรายต่อแบคทีเรียในดิน และในระบบย่อยอาหาร (digestive tract) (Gourvalin, 1998) การถ่ายทอดดีเอ็นเอไปสู่แบคทีเรียในดิน ผ่านกระบวนการย่อยสลายซากพืชรวมกับภาวะที่ดีเอ็นเอสามารถคงสภาพในดิน อาจทำให้แบคทีเรียในดินบางชนิด เช่น *Acinetobacter* ซึ่งเป็นหนึ่งในแบคทีเรียที่ตอบสนองต่อการติดเชื้อของ immuno- compromised people ที่มีจำนวนมากขึ้น และอาจส่งผลกระทบต่อคนในโรค เอดส์, มะเร็งเม็ดโลหิตขาว (leukemia) ผู้ที่ทำการเปลี่ยนถ่ายอวัยวะ หรือการรักษาโรคมะเร็งด้วยการบำบัดด้วยสารเคมี elderk people

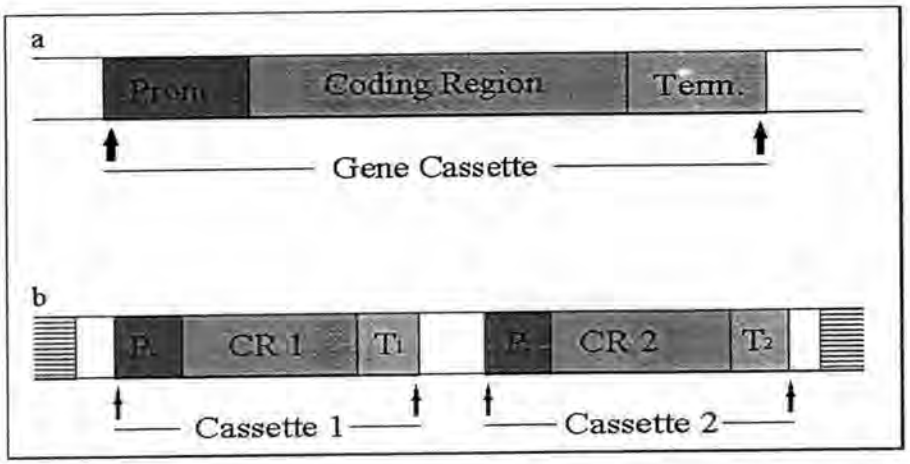
นอกจากนี้ความเสี่ยงในการพัฒนา Cross resistance (Onaolapo, 1994) มีเพียงหนึ่ง Mutation ในยีนต้านทาน (resistant gene) เป็นสาเหตุให้เกิดความต้านทานยาปฏิชีวนะเพียงบางส่วนหรือทั้งหมดได้ ซึ่งส่งผลกระทบโดยตรงต่อการรักษา

ประเทศไทยเริ่มมีการใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมโดยการถ่ายยีนให้กับพืชเพื่อประโยชน์ทางการเกษตรและอุตสาหกรรมการเกษตร โดยการดำเนินการเหล่านี้ยังอยู่ในขั้นตอนของการทดลอง เจตนารมณ์เบื้องต้นเป็นไปเพื่อพัฒนาเทคนิคและเพื่อให้เกิดความรู้ความเข้าใจ สามารถดูแลจัดการกับพืชเหล่านั้นได้อย่างถูกต้อง จนถึงขณะนี้นักวิจัยของไทยมีการวิจัยเพื่อผลิตพืชจำลองพันธุ์หรือพืชแปลงพันธุ์อยู่หลายชนิด เช่น พริก มะเขือเทศ มะละกอ ฝ้าย และข้าว โดยไม่มีพืชชนิดใดที่ได้รับอนุญาตให้มีการผลิตในเชิงการค้า (ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ, 2542) ในระดับของการทดสอบภาคสนาม ประเทศไทยมีการทดสอบภาคสนามพืชจำลองพันธุ์นำเข้ามาในราชอาณาจักรเป็นประเทศแรกในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ขณะนี้มีการศึกษาพืชแปลง

พันธุ์จำนวน 16 รายการ (ภาคผนวก ก) โดยที่รัฐบาลยังจำกัดขอบเขตของการแพร่กระจายและไม่อนุญาตให้มีการนำไปขยายพันธุ์หรือการผลิตในเชิงการค้าเนื่องจากประเทศไทยนำเข้าเมล็ดถั่วเหลืองจากสหรัฐอเมริกาเป็นจำนวนมากในแต่ละปี ซึ่งถั่วเหลืองดังกล่าวเป็นพืชที่มีความเสี่ยงที่จะเป็นถั่วเหลืองจำลองพันธุ์และถั่วเหลืองเหล่านี้ยังไม่ได้รับการประเมินความเสี่ยง และทดสอบภาคสนามในประเทศไทยแต่อย่างใดจึงทำให้เกิดความกังวลว่าถั่วเหลืองดังกล่าวที่นำเข้าในรูปเมล็ดสำหรับผลิตน้ำมันพืชอาจมีโอกาสที่จะนำมาใช้ผิดวัตถุประสงค์ เช่น นำมาร่อนแยกเกรดขาดเป็นถั่วเหลืองบริโภค หรือจำหน่ายเป็นเมล็ดพันธุ์ ดังนั้นการศึกษาโอกาสปนพันธุ์และความเสี่ยงในแง่มุมต่างๆ จึงเป็นสิ่งจำเป็นและต้องทำอย่างเร่งด่วน ซึ่งการประเมินความเสี่ยงดังกล่าวจำเป็นต้องเข้าใจกลไกการทำงานของยีนที่พบในแต่ละพืชจำลองพันธุ์

องค์ประกอบของชุดยีนที่ใช้ในการสร้างพืชจำลองพันธุ์

การถ่ายทอดยีนเข้าสู่พืชเพื่อสร้างพืชจำลองพันธุ์มิได้ถ่ายทอดแต่เฉพาะตัวยีนที่ต้องการเท่านั้น หากแต่เป็นการถ่ายทอดชุดยีนซึ่งประกอบไปด้วย ตัวควบคุมการทำงานของยีนซึ่งคือโปรโมเตอร์ ตัวยีนเป้าหมายและตัวยุติการสังเคราะห์ที่เรียกว่า Terminator นอกจากนี้ยังต้องมีตัวบ่งชี้เพื่อช่วยให้มั่นใจว่ายีนใช้ถ่ายทอดเข้าสู่สิ่งมีชีวิตเป้าหมายแน่ ซึ่งเรียกว่ายีนเครื่องหมาย (Marker gene)



ภาพที่ 3 โครงสร้างของชุดยีนซึ่งประกอบด้วย
ส่วนควบคุมการทำงาน ส่วนของยีนเป้าหมายและส่วนยุติการสังเคราะห์(รูป a)
และโครงสร้างของชุดยีน 2 ชุด ดีเอ็นเอเป้าหมายและยีนเครื่องหมาย (รูป b)

ในรายละเอียดการทำให้ยีนเป้าหมายเข้าสู่พืชเป้าหมายและทำงานตามจุดประสงค์จำเป็นต้องออกแบบให้ชุดยีนอยู่ในโครงสร้างที่กำหนดเรียกว่า ชุดคัสเซทยีน ซึ่งประกอบไปด้วยยีน

โปรโมเตอร์ ยีนเป้าหมาย และยีน Terminator ยีนโปรโมเตอร์เป็นยีนที่ใส่เข้าไปในพืชนั้นเพื่อทำหน้าที่ให้มีการสังเคราะห์โปรตีนภายใต้การควบคุมของโปรโมเตอร์ยีนซึ่งทำหน้าที่เป็นสวิตเปิดปิดโดยการทำงานของเอนไซม์อาร์เอ็นเอโพลีเมอเรส (RNA Polymerase) ซึ่งจำเป็นในกระบวนการทรานสคริปชัน Transcription อาร์เอ็นเอโพลีเมอเรสจะอาศัยบริเวณในโปรโมเตอร์และเคลื่อนที่ต่อไปยังยีนโครงสร้างเป็นจุดเกาะตัวและเพื่อสังเคราะห์อาร์เอ็นเอที่เป็นต้นแบบของรหัสโปรตีนที่มีลักษณะตามต้องการ จากการสำรวจการใช้โปรโมเตอร์ในพืชจำลองพันธุ์ พบว่านิยมใช้ 35S-Promoter ที่ได้จาก Cauliflower mosaic virus (35S) ถึง 22 ชนิด รองลงมาคือ โปรโมเตอร์ที่ได้จากยีน *Nopaline Synthase* ของ *Agrobacterium tumefaciens* (P-nos) 17 ชนิด ใช้โปรโมเตอร์ที่ได้จาก Ribulose-1,5-biphosphate carboxylase ประมาณ 7 ชนิด และ P-TA29 ที่สกัดได้จากยาสูบ 7 ชนิด เมื่อพิจารณาเฉพาะพืชจำลองพันธุ์ที่จำหน่ายเป็นการค้า จะพบว่ามากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ ใช้ 35S โปรโมเตอร์เป็นโปรโมเตอร์หลักในการผลักดันให้ยีนทำหน้าที่ (Benfey and Chua 1990 , Norric, et al. 1993 , Topfer ,et al. 1993) สำหรับยีนโครงสร้างที่พบมากในพืชจำลองพันธุ์ที่จำหน่ายในปัจจุบันคือ ยีน *EPSPS* ซึ่งทำให้พืชที่มียีนนี้ต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชไกลโฟเสท และยีน *Cry* สร้างโปรตีนพิษ *Bt* Toxin สำหรับยีนเทอร์มิเนเตอร์ที่ควบคุมการยุติการสังเคราะห์ ที่นิยมใช้ในพืชจำลองพันธุ์ที่จำหน่ายในปัจจุบัน คือ nos terminator (ปิยะศักดิ์ ชอุ่มพฤกษ์,2543)

การตรวจสอบพืชและผลิตภัณฑ์แปรรูปของพืชจำลองพันธุ์

ข้อแตกต่างประการเดียวระหว่างผลิตผลจำลองพันธุ์กับผลิตผลตามธรรมชาติ คือการมีหรือไม่มียีนเป้าหมาย ทั้งนี้เนื่องจาก mRNA ที่สังเคราะห์จากยีนเป้าหมายคงอยู่ในระยะเวลาเพียงสั้นๆ แล้วก็สลายตัวไป ส่วนโปรตีนเป้าหมายหรือเอนไซม์จากยีนนั้นแม้จะคงอยู่ได้นานกว่า ขั้นตอนการแปรรูปผลิตภัณฑ์อาจทำให้โปรตีนเหล่านี้เสียสภาพไปได้ ดีเอ็นเอจึงเป็นชีวโมเลกุลที่ได้รับความนิยมใช้ในการตรวจสอบมากที่สุด ปัจจุบันวิธีการตรวจสอบผลิตภัณฑ์จำลองพันธุ์ที่เป็นการค้า มีหลายวิธี ดังตารางที่ 2 (ปิยะศักดิ์ ชอุ่มพฤกษ์,2543)

ตารางที่ 2 แสดงวิธีการที่ใช้ในการตรวจสอบสิ่งมีชีวิตจำลองพันธุ์

วิธี/โมเลกุลที่ทดสอบ	ค่าใช้จ่ายต่อตัวอย่าง(บาท)	ระยะเวลาที่ใช้	ความยากง่าย	ผลที่ได้
ELISA/โปรตีน	50-200	2-8 ชม.	ปานกลาง ต้องใช้บุคลากรที่มีความรู้ความชำนาญ	ทดสอบชนิดของยีน และปริมาณร้อยละที่พบในตัวอย่างได้ มีความแม่นยำปานกลาง และมีข้อจำกัดในชนิดของสิ่งมีชีวิตจำลองพันธุ์ที่ทดสอบ
Flow Strip/ โปรตีน	250-1,000	10-20 นาที	ไม่ต้องใช้อุปกรณ์ซับซ้อน และบุคลากรเฉพาะทางแต่อย่างใด	ทดสอบชนิดของยีนที่ใช้ในการดัดแปลงพันธุกรรม แต่ไม่สามารถทดสอบในเชิงปริมาณได้
PCR/ดีเอ็นเอ	2,000-15,000	1-3 วัน	ต้องใช้เครื่องมือ และบุคลากรที่ความชำนาญ	เป็นวิธีที่ให้ความแม่นยำ มีความไวในการทดสอบสูงที่สุดในขณะนี้ ตรวจสอบได้ทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณ
Southern hybridization/ ดีเอ็นเอ	2,000-15,000	4-6 วัน	ยุ่งยาก ใช้เครื่องมือ และบุคลากรที่มีความชำนาญ อาจต้องใช้สารกัมมันตรังสี	ตรวจสอบชนิดของยีนที่พบได้โดยตรง มีข้อจำกัดในเรื่องความไวของการตรวจสอบ

ค่าใช้จ่ายต่อตัวอย่าง ของวิธี PCR/ดีเอ็นเอ ในตารางมาจากหน่วยที่ให้บริการตรวจสอบในต่างประเทศโดยรวมค่าบริการต่างๆที่เกี่ยวข้องไว้หมดแล้ว.

ค่าใช้จ่ายคิดที่ อัตราแลกเปลี่ยน 33 บาท : 1 ดอลล่าห์สหรัฐ

วิธี ELISA อาศัยการตรวจสอบโปรตีนของยีนเป้าหมาย เข้าทำปฏิกริยากับโปรตีนที่ได้โดยการจับตัวแบบเฉพาะเจาะจง เป็นเทคนิคนี้ไม่ยุ่งยากแต่มีข้อจำกัดในเรื่องความคลอบคลุมต่อชนิดของสิ่งมีชีวิตจำลองพันธุ์ ที่จะทดสอบและอีกประเด็นหนึ่งคือจะต้องมีโปรตีนเหล่านั้นอยู่ในปริมาณที่ตรวจสอบได้ คือในระดับมากกว่า 0.0001 กรัม

วิธี Flow Strip เหมาะสำหรับใช้ตรวจสอบผลิตภัณฑ์การเกษตร ก่อนการซื้อขายว่าเป็น พืชจำลองพันธุ์ หรือไม่ โดยอาศัยความเฉพาะเจาะจงต่อโปรตีนซึ่งเป็นผลลัพท์ของยีนที่ตัดต่อเข้าสู่พืชในลักษณะเดียวกันกับ ELISA เพียงแต่นำมาทำปฏิกริยาบนแผ่นฟิล์มบางของเมนเบรนเท่านั้น วิธีนี้จัดว่าเป็นวิธีที่ให้ความแม่นยำน้อยที่สุดแม้ว่าจะสะดวกที่สุดก็ตาม

วิธี Southern hybridization อาศัยหลักการจับตัวของดีเอ็นเอ โดยสร้างดีเอ็นเอที่เป็นตัวตรวจจับที่เฉพาะจงเจาะกับยีนเป้าหมายแล้วปล่อยให้ดีเอ็นเอนั้นเข้าจับตัวกับดีเอ็นเอในบริเวณ

ยีนเป้าหมายที่ตัดต่อเข้าสู่พืช เทคนิคนี้มีความยุ่งยากใช้เครื่องมือและบุคลากรที่ชำนาญการ อาจต้องใช้สารกัมมันตรังสี และใช้เวลาตรวจสอบนานจึงไม่เป็นที่นิยม

วิธีตรวจสอบด้วยเทคนิค PCR เป็นวิธีที่แม่นยำและมีความไวในการตรวจสอบสูงสุดในปัจจุบัน สามารถตรวจสอบดีเอ็นเอในตัวอย่างถึงในระดับ 1 ในพันล้านล้านกรัม ทำได้ในเวลาที่รวดเร็วและสามารถตรวจสอบสิ่งมีชีวิตจำลองพันธุ์ ทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณได้เป็นอย่างดี แม้ว่าจะเสียค่าใช้จ่ายสูงและใช้บุคลากรที่มีความชำนาญ ทดสอบโดยตรงต่อตัวดีเอ็นเอ จึงให้ความรวดเร็วและแม่นยำ

จากข้อดีของการตรวจสอบด้วยเทคนิค PCR ที่เฉพาะเจาะจงต่อบริเวณใดบริเวณหนึ่งของดีเอ็นเอ จึงเลือกใช้แนวคิดเดียวกัน มาทำการตรวจสอบการไหลเวียนของยีนในสภาพธรรมชาติได้ อย่างไรก็ดี การตรวจสอบต้องอาศัยข้อมูลของชิ้นส่วนดีเอ็นเอเพื่อการออกแบบไพรเมอร์ที่มีความเฉพาะเจาะจง

จากการศึกษาพืชจำลองพันธุ์ในปัจจุบันพบว่า มากกว่าร้อยละ 95 ของพืชจำลองพันธุ์ที่ได้รับอนุญาตให้มีการจำหน่ายเป็นการค้า มีโครงสร้างยีนควบคุมเป็น 35S โปรโมเตอร์ของ Cauliflower Mosaic Virus (CaMV) โปรโมเตอร์นี้ส่วนใหญ่พัฒนามาจากไวรัสสายพันธุ์ที่มีอยู่ในธรรมชาติ ดังนั้นการตรวจสอบลำดับของยีน 35S โปรโมเตอร์ จากหลากสายพันธุ์ (strain) ทำให้ทราบบริเวณที่สำคัญของโปรโมเตอร์และบริเวณลำดับเบสที่มีความเหมือนกันสูง 35S โปรโมเตอร์มีลำดับเบสประมาณ 350 bp. และมีบริเวณที่เป็นแกนสำคัญ (Core promoter) ในการผลักดันให้เกิดการแสดงออกของยีนขนาด 56 bp. (ปิยะศักดิ์ ชอุ่มพฤกษ์, 2543) พืชจำลองพันธุ์แต่ละชนิดจะมีรายละเอียดการใช้ 35S โปรโมเตอร์ ต่างกันบ้าง เพื่อให้เกิดการแสดงออกของยีนที่เหมาะสม แต่ลำดับเบสแกนหลักของ 35S โปรโมเตอร์ ที่ใช้ยังคงเดิม ไม่เปลี่ยนแปลง ดังนั้นการตรวจสอบพืชจำลองพันธุ์โดยตรวจสอบ DNA ควบคุม บริเวณแกนหลักของ 35S โปรโมเตอร์ ด้วยเทคนิค PCR จึงเป็นวิธีการที่เหมาะสมในปัจจุบัน

หลักการออกแบบ และเลือกใช้ PCR primerที่ถูกต้องมีดังนี้ (สิริฤกษ์ ทรงศิวิไล ,2536)

1). มีความจำเพาะกับลำดับเบสเป้าหมาย (Target sequence) และไม่สามารถจับกับบริเวณอื่นในลำดับเบส (Sequence)นั้น หรือลำดับเบสอื่น

2). จับและทำให้เกิด Stable Complex กับลำดับเบสเป้าหมายที่ต้องการในสภาวะที่เหมาะสม ซึ่งขึ้นกับความเข้มข้นเกลือและอุณหภูมิ

3). ไม่จับกับตัวเอง (Hairpin) หรือ Copy อื่นของตัวเอง (Self dimer) และต้องไม่จับ (Anneal) กับ Primer อีกสายจนเกิดเป็น(Heterodimer)

4). ปัจจัยอื่นที่ต้องคำนึงถึงได้แก่ ขนาดของ Primer ปริมาณและสัดส่วนของเบส G และ C , และค่าจุดหลอมเหลว (T_m) ของ primerที่ออกแบบ

ถั่วเหลือง

ถั่วเหลือง (soybean) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Glycine max* (L.) Merrill เป็นพืชตระกูลถั่วที่มีคุณค่าอาหารสูง เป็นแหล่งโปรตีนราคาถูก แหล่งปลูกใหญ่อยู่ในอเมริกาเหนือ อเมริกาใต้ ออสเตรเลีย เอเชีย แอฟริกา และ ยุโรป สำหรับประเทศไทยถั่วเหลืองจัดเป็นพืชปลูกเพื่อทดแทนการนำเข้าเมล็ดถั่วเหลืองและกากถั่วเหลือง เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมสกัดน้ำมันถั่วเหลือง และอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ ถั่วเหลือง *Glycine max* มีจำนวน โครโมโซม (2N) เท่ากับ 40 เป็นพืชผสมตัวเองมีโอกาสในการผสมข้าม 1-10% (วันชัย จันทร์ประเสริฐ, 2542) ข้อมูลจากสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตรปี 2542 แสดงให้เห็นว่าประเทศไทยแบ่งเขตการปลูกถั่วเหลืองออกเป็น 4 ภูมิภาค คือ ภาคเหนือตอนบน ภาคเหนือตอนล่าง ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยพื้นที่หลักของประเทศไทยอยู่ในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างซึ่งมีเนื้อที่การปลูกถั่วเหลืองรวมกันประมาณหกแสนไร่ คิดเป็น 40% ของพื้นที่ปลูกทั้ง ผลผลิตรวมในปี พ.ศ. 2539/40 359,000 ตันต่อไร่ เมื่อคิดผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่พบว่าค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับประเทศอื่นคือเฉลี่ย 212-224 กิโลกรัมต่อไร่ ความต้องการเมล็ดพันธุ์คำนวณจากพื้นที่ปลูกในปี พ.ศ. 2539/40 (ใช้อัตราเมล็ดพันธุ์ 12 กิโลกรัมต่อไร่) ทั่วประเทศมีความต้องการเมล็ดพันธุ์ 20,352 ตัน ซึ่งลดลงเรื่อยๆตั้งแต่ปี 2537/38 เป็นต้นมา การปรับปรุงพันธุ์และผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองหลักอยู่ในความรับผิดชอบของสถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร พันธุ์ที่ผลิตในปีพ.ศ. 2542 ได้แก่ สจ.4 สจ.5 เชียงใหม่60 นครสวรรค์1 สุโขทัย1 สุโขทัย2 ถั่วเหลืองฝักสดเชียงใหม่1. หน่วยงานราชการที่มีหน้าที่ผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองจำหน่ายโดยตรง คือ กองขยายพันธุ์พืช กรมส่งเสริมการเกษตร โดยในแต่ละปียังผลิตได้ไม่เพียงพอต่อความต้องการ(สมศักดิ์ ศรีสมบุญ, 2543)

พันธุ์ถั่วเหลือง ในประเทศสหรัฐอเมริกาและคานาดาแบ่งพันธุ์ออกเป็น 12 กลุ่มตามอายุสุกแก่ ระบุกลุ่มด้วยตัวเลขโรมัน ตั้งแต่ 00. 0. I ถึง X กลุ่ม 00 ปรับตัวอยู่ในเขตวันยาวที่ละติจูดสูงๆ และกลุ่ม X เป็นกลุ่มที่มีอายุสุกแก่ช้า UPOV(1983)แบ่งตามอายุสุกแก่เป็น 9 กลุ่ม คือ 1 เบามาก 2 เบามากถึงเบา 3 เบา 4 เบาถึงปานกลาง 5 ปานกลาง 6 ปานกลางถึงหนัก 7 หนัก 8 หนักถึงหนักมาก 9 หนักมาก ซึ่ง IBPGR(1984)ได้เทียบกลุ่มพันธุ์ตามอายุสุกแก่กับกลุ่มพันธุ์ของสหรัฐอเมริกาและคานาดาดังนี้

IBPGR Group	USA/Canadian Groups
1	00,0
3	I, II
5	I, IV
7	V, VI, VII
9	VIII, IX, X

สำหรับประเทศไทย การแบ่งกลุ่มของพันธุ์ตามอายุสุกแก่ไม่เด่นชัดเนื่องจากความแตกต่างสภาพพื้นที่เพาะปลูกมีไม่มากและอยู่ในช่วงละติจูดแคบประมาณ 5-15 องศาเหนือ ซึ่งความแตกต่างของอุณหภูมิมีไม่มากนัก การจำแนกพันธุ์ถั่วเหลืองมักใช้ลักษณะสีของขนบนลำต้น สีของกลีบดอก สีของตาเมล็ด สีของฝักแก่ สีของเยื่อหุ้มเมล็ด รูปร่างของใบ ขนาดของใบ ขนาดเมล็ด และลักษณะการทอดยอด ลักษณะการเติบโตของลำต้น (เช่น ตั้งตรง เลื้อยหรือกึ่งเลื้อย) ความสูงของลำต้นที่ระยะเก็บเกี่ยว (วันชัย จันทร์ประเสริฐ ,2542)

การผสมเกสร ดอกถั่วเหลืองเป็นดอกสมบูรณ์เพศ การผสมเกสรในธรรมชาติเกิดขึ้นก่อนดอกจะบานและกระจายละอองเกสรตัวผู้ในตอนเช้า โอกาสการเกิดผสมข้ามดอกเกิดขึ้น 1-10% แม้ถั่วเหลืองเป็นพืชที่สร้างดอกได้มาก แต่มีเพียง 25 % เท่านั้นที่จะเจริญไปเป็นฝัก (กลุ่มเกษตรสัญจร,2531) การผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง แปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์หนึ่งๆ ต้องปลูกในพื้นที่ที่ไม่เคยปลูกถั่วเหลืองพันธุ์อื่นมาก่อนและต้องปลูกในพื้นที่ผืนเดียวกัน โดยเว้นระยะห่างระหว่างแปลงพันธุ์ไม่น้อยกว่า 3 เมตร ควรมีการตรวจสอบแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองอย่างน้อย 2 ครั้ง ครั้งแรกที่ระยะเริ่มออกดอก ครั้งที่ 2 เมื่อใบเริ่มร่วง

ประเทศไทยมีการนำเข้าถั่วเหลืองจากแหล่งนำเข้าหลัก คือ สหรัฐอเมริกา อาเจนตินา และ บราซิล ซึ่งถั่วเหลืองจากประเทศเหล่านี้ในปัจจุบันส่วนมากเป็นผลิตภัณฑ์จำลองพันธุ์ เมื่อวัตถุดิบนำเข้าเกิดการนำไปใช้ผิดวัตถุประสงค์จึงมีโอกาสที่เมล็ดถั่วเหลืองจำลองพันธุ์จะเข้าไปปนเปื้อนในตลาดสินค้าเกษตรภายในประเทศ การสุ่มตัวอย่างถั่วเหลืองและผลิตภัณฑ์แปรรูปจากถั่วเหลืองพบว่า ผลิตภัณฑ์ที่วางขายในเขตกรุงเทพมหานครปนเปื้อนด้วยถั่วเหลืองดัดแปลงพันธุกรรมในสัดส่วนที่สูง ผลิตภัณฑ์ที่ตรวจพบได้แก่ ถั่วเหลืองบรรจุถุง 1 กิโลกรัม เต้าหู้แข็งปราศจากบรรจุภัณฑ์ เต้าหู้อ่อน น้ำนมถั่วเหลือง และน้ำนมถั่วเหลืองบรรจุขวด และมีแนวโน้มว่าจะมีการแพร่กระจายไปยังจังหวัดต่างๆในประเทศ นอกจากนี้ยังพบถั่วเหลืองพันธุ์พื้นเมือง มีโอกาสปนเปื้อนด้วยพันธุ์จำลองพันธุ์ ในสัดส่วนที่สูงด้วย (ปิยะศักดิ์ ชอุ่มพฤกษ์, 2543)

Dr.Mae – Wan Ho (1998) จากภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเปิดลอนดอน ประเทศอังกฤษ กล่าวถึงความน่าจะเป็นในการเกิดการดื้อยาของเชื้อโรคในมนุษย์ อันเป็นผลจากการไหลเวียนของยีนต้านทานสารปฏิชีวนะไปสู่แบคทีเรียที่เวียนในธรรมชาติ จากการศึกษาพบว่าเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ที่พัฒนาจากห้องปฏิบัติการสามารถอยู่รอดในสภาพแวดล้อม และเกิดการแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรมกับสิ่งมีชีวิต (organism) อื่น ดีเอ็นเอเปลือยเปล่าของไวรัส (Necked viral DNA)ยังคงความสามารถในการเป็นเชื้อโรคติดต่อ และมีเจ้าบ้านกว้างกว่าตอนเป็นไวรัสที่สมบูรณ์ นอกจากนี้ดีเอ็นเอของไวรัสทนทานต่อการย่อยในกระเพาะของหนูทดลองและสามารถเข้าไปสู่กระแสโลหิต ทำให้เซลล์เม็ดเลือดขาว ม้าม ตับ ติดเชื้อไวรัส และบางโอกาสก็เข้าไปรวมกับจีโนมของหนูทดลอง

การศึกษาของ Cummins (1994) เกี่ยวกับ Virus promotor gene (CaMV) หรือที่รู้จักกันดีในนาม 35S-promotor ประกอบด้วย RNA มีลักษณะคล้ายคลึงอย่างมากกับ Hepatitis B virus กับ HIV เพิ่มความน่าจะเป็นในการเกิด recombination

ผลการศึกษาของศาสตราจารย์ Hans - Hinrick kaatz แห่งศูนย์วิจัยผึ้ง มหาวิทยาลัยเจนา (Jena) เมื่อ 21 พฤษภาคม 1999 พบว่าดีเอ็นเอของต้นจำลองพันธุ์ rapeseed สามารถก่อให้เกิดการเคลื่อนย้ายยีนไปสู่แบคทีเรียและยีสต์ในลำไส้ (Midgut) ของผึ้งน้ำหวานโดยตรวจพบ *pat-gene* ซึ่งต้านทานสาร glufosinate จาก rapeseed

ในปีค.ศ. 1994 บริษัท Cal-gene ผู้ผลิตมะเขือเทศดัดแปลงพันธุกรรม Flavr savr™ ตีพิมพ์ข้อมูลเกี่ยวกับมะเขือเทศพันธุ์ Flavr savr™ ที่ใช้ยีน antisense ทำให้มะเขือเทศสุกช้า และใช้มาร์คเกอร์ยีนต้านทานต่อยาปฏิชีวนะคานามัยซิน ซึ่งมาร์คเกอร์ยีนดังกล่าวมีความสามารถถ่ายทอดไปยังแบคทีเรียในลำไส้ได้ในอัตรา 10^{-2} และไปสู่แบคทีเรียในดินในอัตรา 10^{-6} แต่ PSRAST (1999) อ้างถึงผลการศึกษาของ J.De Vries and. W. Wackermagel,ที่พบว่ามาร์คเกอร์ยีนดังกล่าวมีความสามารถถ่ายทอดไปสู่แบคทีเรียในดินในกลุ่ม อะซิโตแบคเตอร์ (*Acinetobacter)* ในอัตรา 2,500 : 1 ยีน ซึ่งต่างจากข้อมูลจากการประเมินที่บริษัท Cal-gene ส่งให้ FDA มาก เมื่อนำตัวเลขใหม่มาคำนวณจะพบว่าพืชแปลงพันธุกรรม 1 ต้น เช่น GE Maize ใน 1 ต้นมีจำนวนเซลล์ประมาณ 1 ล้านล้าน(billion)เซลล์ (PSRAST, 1999) จะมีโอกาสในการส่งถ่ายยีนดังกล่าวไปสู่แบคทีเรียในดินได้ถึง 4 ร้อยล้านครั้ง

Cummins (1994) พบว่าในมะเขือเทศพันธุ์ Flavr Savr™ ที่มีส่วนควบคุมการแสดงออกของยีนโปรโมเตอร์ คือ 35S Promoter Cauliflower Mosaic Virus (CaMV) นั้น ตัวยีนในโปรโมเตอร์จะสามารถรวมกับไวรัสของแมลงและสามารถแพร่กระจายเข้าสู่เซลล์ได้

Suurküla (1997) กล่าวถึงผลการศึกษาเซลล์ของพืชจำลองพันธุ์ที่ตายแล้ว ซึ่งสามารถคงอยู่ในดินเหนียว (Clay particles) ได้นานเป็นระยะเวลาเฉลี่ย 28 ชั่วโมง ส่วนเซลล์ที่ตายแล้วของปลาจำลองพันธุ์ที่ผ่านออกมาจากกระบวนการขับของเสียของตัวปลาดังกล่าว ดีเอ็นเอสามารถคงสภาพการมีชีวิตอยู่ที่ผิวหน้ามหาสมุทรได้ 45-83 ชั่วโมง และจะเพิ่มเป็น 235 ชั่วโมงเมื่อดีเอ็นเอดังกล่าวตกลงไปอยู่ที่ตะกอนพื้นมหาสมุทร นอกจากนี้ยังกล่าวอีกว่ายีนจากพืชจำลองพันธุ์สามารถส่งผ่านไปยังจุลชีพในดินได้โดยวิธีดังต่อไปนี้

1. DNA uptake directly from surrounding.
2. DNA transfer by infecting bacteriophage viruses.
3. DNA transfer by mating. (ex. bacteria conjugation)

การศึกษาในเรื่องความเสี่ยงจากการผสมข้ามพันธุ์ของพืชจำลองพันธุ์กับพืชตามธรรมชาติ มีปัจจัยสำคัญอยู่ที่รูปแบบของการผสมพันธุ์ในพืชและการแพร่ละอองเรณู ระยะเวลาความมีชีวิตอยู่ของละอองเรณูในสภาพแวดล้อม ระยะทางการแพร่กระจายโดยลม น้ำ หรืออาศัยพาหะในการพาไป และพืชที่ผสมตัวเองจะมีความเสี่ยงในเรื่องดังกล่าวน้อยกว่าพืชที่ผลมข้ามต้น พืชที่ผสมตัวเอง เช่น ฝ้ายจำลองพันธุ์พบว่ามีการผสมข้ามกับฝ้ายพันธุ์พื้นเมืองได้ประมาณ 1 % (เกรียงไกร สุวรรณภักดิ์, 2543) ถั่วเหลืองพบการผสมข้ามประมาณ 1% ส่วนพืชผสมข้าม เช่น ข้าวโพด Bt สามารถเดินทางไปโดยลมเป็นระยะทาง 500 เมตร และเกิดการผสมข้ามกับข้าวโพดพันธุ์พื้นเมืองในอัตรา 0.5-0.75 % ที่ระยะดังกล่าว (Emberlin, 1999)

Jorgensen และ Andersen (1994) พบการเกิด Spontaneous hybridization ในสภาพแปลงปลูกระหว่าง Rapeseed จำลองพันธุ์ (*Brassica napaus*) กับ (*B. campestris*) ซึ่งเป็นวัชพืชในสกุลใกล้เคียง และจากรายงานของสถาบัน Scottish Crop Research Institute ในเดือนเมษายน 1999 พบว่า Rapeseed ในแปลงปลูกธรรมชาติที่ห่างออกไปจากแปลงปลูก Rapeseed จำลองพันธุ์ ถึง 400 เมตร ได้รับการผสมด้วยละอองเรณูจากพืชจำลองพันธุ์ถึง 7 %

ผลการศึกษาละอองเรณูของข้าวโพดต้านทานแมลงที่มียีนสร้างสารพิษ Bt เป็นยีนเป้าหมาย โดยมหาวิทยาลัย Cornell ประเทศสหรัฐอเมริกา พบว่าละอองเรณูดังกล่าวที่ปลิวไปตกบนใบของต้น milk weed ซึ่งเป็นอาหารของหนอนผีเสื้อโมนาร์ช (Monarch) ส่งผลให้หนอนผีเสื้อดังกล่าวซึ่งเป็นแมลงที่มีประโยชน์ต่อพืช และไม่ใช่แมลงกลุ่มเป้าหมาย ตายไป 56 % ส่วนที่รอดตายพบว่ามีการเจริญเติบโตช้ากว่าหนอนผีเสื้อโมนาร์ชปกติ ปกติละอองเรณูข้าวโพด คงความสามารถในการผสมพันธุ์ใน 24 ชั่วโมง และปลิวไปได้ไกลประมาณ 180 กิโลเมตร และจากการศึกษาของสถาบัน Swiss Federal Research Station for Agroecology and Agriculture พบว่า ตัวหนอน Green lacewing larvae ที่บริโภค Bt Toxin จากเชื้อ *E. coli* ที่ผ่านการตัดแต่งพันธุกรรม (ซึ่งมี

ลักษณะเดียวกับ Bt Toxin ที่มาจากข้าวโพดจำลองพันธุ์ของบริษัท Novatis) มีอัตราการตายเพิ่มขึ้นเป็น 57 % ในขณะที่ตัวหนอนกลุ่ม Control มีอัตราการตายอยู่ที่ 30% นอกจากนี้ยังพบว่าตัว Green lacewing ที่บริโภค corn borers ที่บริโภคข้าวโพด Bt จะมีอัตราการตายสูงขึ้น

ผลการศึกษาของ Taylor (1999) นักกีฏวิทยาแห่งมหาวิทยาลัยเคนซัส (Kansas University) พบว่าพืชจำลองพันธุ์ประเภทที่มียีนต้านทานสารกำจัดวัชพืช (Herbicide Resistant Crop) เช่น ข้าวโพด ถั่วเหลือง เป็นต้น ส่งผลทางอ้อมต่อประชากรต้น milk weed ซึ่งเป็นแหล่งอาหารของตัวหนอนผีเสื้อโมนาร์ช (Monarch) ส่งผลให้หนอนผีเสื้อดังกล่าวซึ่งเป็นแมลงที่ไม่อยู่ในแมลงกลุ่มเป้าหมายและมีประโยชน์ต่อพืชลดจำนวนลง ส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศ Larson (2000) กล่าวว่าสารกำจัดวัชพืชที่ใช้ในการจัดการในแปลงปลูกพืชจำลองพันธุ์ ส่งผลกระทบต่อประชากรพืชปลูก และพืชป่า ทั้งที่เป็นชนิดเดียวกัน และต่างชนิดกันที่ไม่มียีนต้านทานสารกำจัดวัชพืชดังกล่าว (glyphosate) ที่อยู่ในบริเวณโดยรอบแปลงเป้าหมายต้องสูญเสียไป ระดับความรุนแรงขึ้นกับทิศทางลม และระยะทางที่ลมพาสารกำจัดวัชพืชดังกล่าวไปตกลงบนต้นพืช หรือพื้นดิน

Torgersen H., et al. (1998) ศึกษาถึงผลกระทบจากพืชจำลองพันธุ์โดยอาศัยหลักการที่ปรากฏในAnnex II B (EU Directive 94/15/EC) ซึ่งกล่าวถึงหลักประเมินในระยะยาวที่ใช้เป็นหลักในการทดสอบ และ เปรียบเทียบ เพื่อตอบคำถาม เกี่ยวกับ ความเพียงพอของ Annex II B ในการตรวจสอบความปลอดภัยของพืชจำลองพันธุ์ ซึ่งเขาเชื่อว่าสามารถประยุกต์ใช้เพื่อตรวจสอบในช่วงระยะเวลาสั้นๆ การทดสอบโดยสำรวจผลกระทบทางนิเวศวิทยาของพืชปกติเปรียบเทียบกับพืชที่มี Annex II เพื่อดูว่าจะสามารถนำ Annex II ไปใช้กับช่วงระยะเวลายาวให้เหมาะสมได้หรือไม่ ความสามารถในการถ่ายทอดยีนจากพืชจำลองพันธุ์กับการปรับตัวของพืชในแต่ละวงศ์ ทำให้สามารถสรุปถึงความเป็นไปได้ที่พืชจำลองพันธุ์จะมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ทั้งนี้เน้นที่การวัดผลกระทบที่เกิดจากเกษตรกรรมมากกว่าผลกระทบจากการถ่ายทอดยีนและการบุกรุกของยีน แต่อย่างไรก็ตามก็ยังมีการแนะนำให้ใช้ Annex II ในปัจจุบัน

การประเมินผลกระทบทางสิ่งแวดล้อม

Asakawa Y., et al.(1993) ได้ประเมินผลกระทบจาการนำพืชจำลองพันธุ์ที่ต้านทาน TMV ออกสู่สิ่งแวดล้อม โดยมีการเปรียบเทียบลักษณะต่างๆของพืชที่เป็นปกติและพืชจำลองพันธุ์ จาก ลักษณะการเจริญ (ความสูง ความแข็งแรง) การกระจายของละอองเรณูในต้นที่อ่อนแอ ชนิดองค์ประกอบสารเคมีที่พืชผลิตขึ้น (เช่น allelochemical ในเนื้อเยื่อพืช) สภาพแวดล้อมโดยรอบ (ดิน อากาศ จุลชีพในดิน) ความสามารถในการทนความหนาวเย็น ความสามารถที่จะเป็นวัชพืช จำนวนของ *Agrobacterium* ที่อาจจะปะปนมาในพืช และชนิดของแมลงที่เกี่ยวข้องกับพืชเป็นต้น

Bazin and Lynch (1994) จากการตรวจสอบผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมของมะเขือเทศจำลองพันธุ์ ในบางกรณีพบว่าไม่มีอันตราย จึงสามารถทำการเพาะปลูกได้ในพื้นที่โล่ง (open field) และ ยีนต้าน TMV สามารถถ่ายทอดจากรุ่นสู่รุ่นได้

Tabei Y., et al.(1994) ได้ประเมินผลกระทบทางสิ่งแวดล้อมของพืชจำลองพันธุ์ในแตงเทศ (melon) ที่มียีนโปรตีนเปลือกหุ้ม (coat protein) ของไวรัสที่ทำให้เกิดโรคใบด่างในพืชวงศ์แตง Cucumber Mosaic Virus (CMV) โดยทดสอบในสภาวะเรือนกระจกทั้งสภาพปิดและกึ่งปิด เปรียบเทียบระหว่างพืชปกติและพืชจำลองพันธุ์โดยประเมินจากลักษณะสัณฐานวิทยาในขณะที่ผลโตเต็มที่ รูปทรง ความสมบูรณ์ และอายุของเกสรตัวผู้ การผสมเกสรโดยใช้ลมจำลอง การแพร่กระจายของละอองเกสรโดยแมลง เปอร์เซ็นต์การงอก ความสมบูรณ์ของเมล็ดพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน สำหรับการผสมข้ามในกลุ่มพืชตระกูลแตงต่างสกุล 24 ชั่วโมงหลังการผสมและพบว่าความยาวของหลอดเกสรตัวผู้ที่งอกขึ้นอยู่กับพืชที่เป็นต้นแม่ แม้ว่าในธรรมชาติเกสรตัวผู้จากพืชปกติไม่สามารถผสมข้ามชนิดได้ จึงสามารถสรุปได้ว่าแตงปกติและแตงที่มีการจำลองพันธุ์ไม่มีความแตกต่างกันทั้งในเรื่องของลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการไหลเวียนของยีน (flow gene) ไปสู่พืชในกลุ่มใกล้เคียงกัน และในปีเดียวกัน Tabei Y., et al. ได้ทำการศึกษาเพิ่มเติมถึงด้านความเป็นไปได้ของอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมจากสารประกอบที่ผลิตโดยแตงจำลองพันธุ์ จากการเปรียบเทียบกับพืชปกติ โดยพิจารณาในแง่ของกรดฟีโนลิกจำพวก Allelochemical substance (ผลิตในลำต้นพืชและหลั่งออกมาบริเวณราก) การผลิตสารระเหยที่ปล่อยออกสู่บรรยากาศ สัดส่วนของการงอก ความยาวราก และปุ๋ยพืชสดที่ พบว่ากรดฟีโนลิกและสารประกอบในรูปสารระเหยจะตรวจไม่พบในแตงที่มีการจำลองพันธุ์ และสัดส่วนของการงอก ความยาวราก และปุ๋ยพืชสดที่ใช้ในการปลูกพืชปกติและพืชจำลองพันธุ์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ผลดังกล่าวสรุปว่าแตงที่มีการจำลองพันธุ์ไม่ได้ผลิตสารที่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมและพืชชนิดอื่นๆ นอกจากนี้อิทธิพลของการเพาะปลูกแตงที่มีการจำลองพันธุ์ต่อสิ่งมีชีวิตในดินที่ทดลองในเรือนกระจกสภาพกึ่งปิด ทดสอบจากการปลูกพืชปกติและพืชจำลองพันธุ์ในดินที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อและตรวจจำนวนสิ่งมีชีวิตเล็กๆในดิน เช่น จุลินทรีย์ แบคทีเรีย แอคติโนไมซิส และเห็ดรา พบว่าจำนวนของแอคติโนไมซิสและเห็ดราในดินที่ใช้ปลูกแตงที่มีการจำลองพันธุ์มีมากกว่าดินที่ใช้ปลูกพืชปกติเพียงเล็กน้อยเท่านั้น แสดงให้เห็นว่าผลกระทบจากการปลูกแตงที่มีการจำลองพันธุ์ต่อสิ่งมีชีวิตในดินไม่แตกต่างกับพืชปกติ ส่วนการวิเคราะห์แบคทีเรียที่ตกค้างบนหรือในต้นพืชในเรือนกระจกสภาพปิดพบว่าปริมาณของ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 ที่ใช้เป็น vector สำหรับแตงที่มีการจำลองพันธุ์ ไม่พบอยู่บนผิวหรือในลำต้นของพืช ทำให้สรุปโดยรวมได้ว่าผลกระทบจากการปลูกแตงที่มีการจำลองพันธุ์ไม่มีความแตกต่างกับการปลูกแตงปกติภายใต้การ

ทดลองในเรือนกระจกสภาพปิดและกึ่งปิด อย่างไรก็ดี การทดลองที่ผ่านมาไม่ได้ติดตามการถ่ายทอดชิ้นส่วนดีเอ็นเอจากพืชจำลองพันธุ์ไปสู่สิ่งแวดล้อมโดยรวม

โดยปกติเมื่อโครงสร้างของยีนและวัตถุประสงค์ในการสร้างพืชจำลองพันธุ์เปลี่ยนไป การพิจารณาและจัดการความเสี่ยงก็เปลี่ยนไปด้วย แม้ว่าการประเมินความเสี่ยงและผลกระทบต่อสภาพแวดล้อมในการแนะนำพืชจำลองพันธุ์ (Introduction) ได้ศึกษากันอย่างแพร่หลาย แต่งานวิจัยส่วนใหญ่มุ่งเน้นถึงผลของตัวยีนต่อสภาพแวดล้อมโดยตรง (Benfey and Chua 1990, Norric, et al. 1993 และ Topfer, et al. 1993) มากกว่าที่มุ่งเน้นการไหลเวียนของยีนเข้าสู่สภาวะแวดล้อม วิทยานิพนธ์นี้มุ่งศึกษาการไหลเวียนของยีนจากพืชจำลองพันธุ์โดยศึกษาจากส่วนควบคุมการแสดงออกโดยใช้ถั่วเหลืองเป็นพืชทดสอบ เพื่อใช้เป็นรูปแบบเบื้องต้นในการประเมินความเสี่ยง ตรวจสอบการไหลเวียนของยีนและตรวจสอบความเป็นพืชจำลองพันธุ์ในพืชชนิดอื่น